

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

FACULTAD DE MEDICINA

TUMORES PRIMARIOS DE HIGADO:

ESTUDIO MORFOLOGICO, CLINICO

E INMUNOHISTOQUIMICO.

Autor: JUAN IGNACIO GONZALEZ MUÑOZ

Directores: Dr. J.I. ISPIZUA URIBARRI

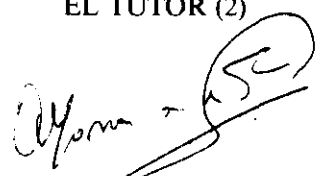
Dr. L. ORTEGA MEDINA

MADRID, DICIEMBRE DE MIL NOVECIENTOS NOVENTA Y CINCO

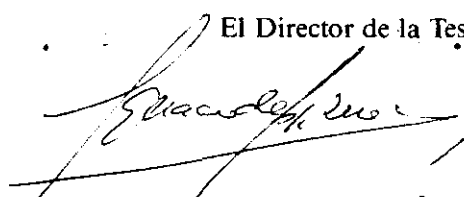
INFORME DEL DIRECTOR DE LA TESIS

El trabajo de tesis doctoral titulado " TUMORES PRIMARIOS DE HIGADO: ESTUDIO MORFOLOGICO, CLINICO E INMUNOHISTOQUIMICO", presentado por D. JUAN IGNACIO GONZALEZ MUÑOZ, ha sido realizado bajo nuestra dirección y tutelaje. Reúne la suficiente materia original e inédita para ser considerada como tesis doctoral y cumple los requisitos exigidos por esta Facultad.

V.º B.º
EL TUTOR (2)


Fdo.: PROF. DE LA FUENTE PERUCHO
(fecha y firma)
D.N.I.: 133405 Y

El Director de la Tesis


Fdo.: Prof. Ispizua-Dr. Ortega
(fecha y firma)

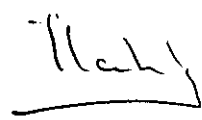
19/12/1995
D.N.I.: 1412580 - 5226068

INFORME DEL CONSEJO DE DEPARTAMENTO

La Tesis Doctoral "TUMORES PRIMARIOS DE HIGADO: ESTUDIO MORFOLOGICO, CLINICO E INMUNOHISTOQUIMICO", realizada por D. Juan Ignacio González Muñoz, ha sido considerada por el Consejo del Departamento apta para ser presentada ante el Tribunal Calificador.

Fecha reunión
Consejo Departamento
20 de diciembre de 1995

El Director del Departamento


Fdo.: Prof. J. L. Balibrea
(fecha y firma) 21-12-95

A mis padres

y

a María José

Quiero agradecer la colaboración y apoyo de todas las personas que me han ayudado al desarrollo y culminación de este trabajo. Pido perdón de antemano si olvido mencionar a alguna persona que haya colaborado, de uno u otro modo, a lo largo de los años que ha durado la materialización de este proyecto.

Al **Dr. J.I. Ispizua Uribarri**, por su confianza y apoyo constante y al **Dr. Ortega Medina** por su ayuda, crítica, exacta, profesional y enormemente constructiva prestada durante el tiempo que me ha llevado elaborar esta tesis.

Al **Prof. Sanz Esponera**, Catedrático y Jefe de Servicio de Anatomía Patológica del Hospital Universitario "San Carlos", por el estímulo, suyo y de todo el Servicio que representa, para la realización de este trabajo.

Al **Prof. Balibrea Cantero**, Catedrático y Jefe de Servicio de Cirugía del Hospital Universitario "San Carlos", por introducirme, durante la licenciatura, en el mundo de la Cirugía.

Al **Prof. Castillo-Olivares**, Catedrático y Jefe de Servicio de Cirugía Experimental de la Clínica "Puerta de Hierro", por brindarme su colaboración en todo momento y la del magnífico Servicio que dirige.

A la **Dra. Millán Santos**, magnífica persona y profesional de la Estadística, y al **Dr. Agis Torres**, amigo y experto en Bioestadística, sin cuya colaboración y comprensión no hubiera sido posible el manejo de todos los datos obtenidos.

A los **Drs. Tendillo Cortijo, Rivera Bautista, Santos González** y a la **Dra. Mascías Cadavid**, amigos y expertos en Informática, que me han apoyado en todo momento, ofreciéndome una ayuda tan profesional como eficaz.

A las **Srtas. Encarna González Zapico y María Jesús de Carlos Sanz** expertas en Informática, por su inestimable ayuda y colaboración.

A **D^a. Pilar Benito y D^a. Francisca Pulido** por sus enseñanzas y ayuda en la realización de cortes en parafina, tinción y técnicas de inmunohistoquímica.

I N D I C E

I. INTRODUCCION

1. GENERALIDADES	8
2. ESTUDIO HISTOLOGICO DEL HIGADO	9
A. <u>ARQUITECTURA NORMAL</u>	9
B. <u>CITOLOGIA NORMAL</u>	11
3. CLASIFICACION DE LOS TUMORES PRIMARIOS DE HIGADO	14
4. ESTUDIO ESTADISTICO DEL CANCER DE HIGADO EN ESPAÑA	16
5. CARCINOMA HEPATOCELULAR	21
A. <u>GENERALIDADES</u>	21
B. <u>EPIDEMIOLOGIA</u>	22
C. <u>ETIOLOGIA</u>	24
D. <u>PATOLOGIA</u>	40
E. <u>CLINICA</u>	52
F. <u>PRONOSTICO</u>	56
G. <u>VARIANTES DE LOS CARCINOMAS HEPATOCELULARES</u>	57
1. HEPATOCARCINOMA DIMINUTO	
2. HEPATOCARCINOMA DE CELULAS CLARAS	
3. HEPATOCARCINOMA DE CELULAS FUSIFORMES	
4. CARCINOSARCOMA	
5. HEPATOCARCINOMA FIBROLAMELAR	
6. HEPATOCARCINOMA DE CELULAS GIGANTES	
7. HEPATOCARCINOMA ESCLEROSANTE	
6. TUMOR COMBINADO: HEPATO-COLANGIOCARCINOMA	65
7. HEPATOBLASTOMA	68

8. COLANGIOCARCINOMA	73
9. INMUNOHISTOQUIMICA DE LOS TUMORES HEPATICOS PRIMARIOS	80
A. <u>GENERALIDADES</u>	80
B. <u>AqHBs</u>	82
C. <u>AqHBc</u>	84
D. <u>ANTIGENO CARCINOEMBRIONARIO (CEA)</u>	84
E. <u>ALFA-1-ANTITRIPSINA (A1AT)</u>	86
F. <u>ALFA-FETOPROTEINA (AFP)</u>	87
G. <u>CITOQUERATINAS</u>	88
H. <u>OTROS ANTIGENOS</u>	91
- PROTEINA C REACTIVA	
- ABH	
- LEWIS	
- XIIa	
II. OBJETIVOS	94
III. MATERIAL Y METODOS	
1. SELECCION DE CASOS	96
2. ESTUDIO CLINICO	97
3. ESTUDIO MORFOLOGICO	98
4. INMUNOHISTOQUIMICA	104
A. <u>AqHBs</u>	105
B. <u>AqHBc</u>	105
C. <u>CEA</u>	106
D. <u>A1AT</u>	106
E. <u>AFP</u>	107
5. ESTUDIO ESTADISTICO	107

IV. RESULTADOS

1. DATOS CLINICOS	110
A. <u>FRECUENCIA, EDAD Y SEXO</u>	110
B. <u>SIGNOS Y SINTOMAS</u>	111
C. <u>EXPLORACION FISICA</u>	113
D. <u>EXAMENES COMPLEMENTARIOS</u>	114
1. RESULTADOS HEMATOLOGICOS	114
2. RESULTADOS BIOQUIMICOS	117
3. RESULTADOS INMUNOLOGICOS	120
4. MARCADORES SEROLOGICOS	121
2. DATOS MORFOLOGICOS	122
A. <u>CARACTERISTICAS GENERALES</u>	122
B. <u>CARACTERISTICAS CITOPATOLOGICAS</u>	128
3. INMUNOHISTOQUIMICA	133
A. <u>AqHBs</u>	134
B. <u>AqHBc</u>	135
C. <u>ANTIGENO CARCINOEMBRIONARIO</u>	136
D. <u>ALFA-1-ANTRIPSINA</u>	138
E. <u>ALFA-FETOPROTEINA</u>	138
4. ESTUDIO ESTADISTICO	139
5. FIGURAS E ILUSTRACIONES	141

V. DISCUSION

1. GENERALIDADES	167
A. <u>TUMORES PRIMARIOS DE HIGADO</u>	167
B. <u>SELECCION DE CASOS</u>	168
C. <u>SELECCION DE VARIABLES</u>	169

2. ESTUDIO CLINICO	170
3. ESTUDIO MORFOLOGICO	173
A. <u>GENERALIDADES</u>	173
B. <u>ESTUDIO CITOPATOLOGICO</u>	176
C. <u>ESTUDIO DEL PARENQUIMA HEPATICO NO TUMORAL</u>	178
4. ESTUDIO INMUNOHISTOQUIMICO	180
A. <u>AqHBs</u>	181
B. <u>AqHBc</u>	183
C. <u>ANTIGENO CARCINOEMBRIONARIO</u>	185
C.1 RELACION CON VARIABLES CLINICAS	
C.2 RELACION CON VARIABLES MORFOLOGICAS	
C.3 RELACION CON VARIABLES INMUNOHISTOQUIMICAS	
D. <u>ALFA-1-ANTITRIPSINA</u>	190
D.1 RELACION CON VARIABLES CLINICAS	
D.2 RELACION CON VARIABLES MORFOLOGICAS	
D.3 RELACION CON VARIABLES INMUNOHISTOQUIMICAS	
E. <u>ALFA-FETOPROTEINA</u>	192
E.1 RELACION CON VARIABLES CLINICAS	
E.2 RELACION CON VARIABLES MORFOLOGICAS	
E.3 RELACION CON VARIABLES INMUNOHISTOQUIMICAS	
VI. CONCLUSIONES	197
VII. BIBLIOGRAFIA	200

I. INTRODUCCION

I N T R O D U C C I O N

1. GENERALIDADES

En los países desarrollados el cáncer representa la segunda causa de muerte, en ellos se estima que una de cada cinco personas fallece por este motivo. En los países subdesarrollados la incidencia es menor, responsabilizándose al cáncer de la muerte de una persona por cada dieciséis fallecimientos.

En España, las tasas de fallecimientos por cáncer son equiparables a las de los países desarrollados ya que, según las estadísticas, el cáncer es el responsable del 20% de las muertes que se producen en nuestro país, superado únicamente por las enfermedades cardiovasculares.⁽¹²⁶⁾

En el hígado, la gran mayoría de los tumores son secundarios, esto es, son metástasis de tumores originados en otros lugares del organismo, con una relación tumores primarios:secundarios de 1:20. Entre los tumores malignos primarios, el carcinoma hepatocelular ocupa el primer lugar en frecuencia, seguido del colangiocarcinoma.

Los tumores de hígado, a pesar de no ser numéricamente frecuentes en Occidente, despiertan enorme interés debido a diversos motivos: En primer lugar, aunque en los países desarrollados no es una neoplasia frecuente, es uno de los cánceres más comunes en Africa y el Sudeste Asiático ⁽¹³⁵⁾, áreas que incluyen algunos de los países más poblados de la Tierra. En segundo lugar, de todas las investigaciones sobre el cáncer clínicamente relevantes, es en este tipo de tumor donde más avances se han conseguido en los últimos años; por ejemplo,

el reconocimiento de la alfa-fetoproteína, la identificación del virus B y virus C de la hepatitis como agentes oncogénicos o la evidencia del potencial carcinogénico de los anticonceptivos orales. En tercer lugar, la carcinogénesis hepática es una de las más estudiadas durante años en animales de experimentación.

La importancia de la enfermedad queda reflejada en las cifras dadas por la Sociedad Americana contra el Cáncer que estima que, en la década de los ochenta, en Estados Unidos, se produjeron 11.600 nuevos cánceres primitivos de hígado y vías biliares por año, siendo 9.300 las muertes anuales producidas por el mismo motivo. Estas cifras se pueden extrapolar a todos los países occidentales pero no así a los africanos ni al sudeste asiático, donde el problema es mucho mayor, pues en ellos el cáncer de hígado ocasiona la muerte de medio millón de personas cada año.

En la Comunidad de Madrid el cáncer primario de hígado provocó una media de 365 muertes anuales en la década de los ochenta, lo que representa el 1.17% de los fallecimientos y una frecuencia media de un muerto diario.⁽⁵³⁾

2. ESTUDIO HISTOLOGICO DEL HIGADO

A. ARQUITECTURA NORMAL

Clásicamente se ha considerado al hígado como un conjunto de lobulillos hexagonales constituidos por parénquima rodeando a una vena central. Pero esta división morfológica no se corresponde en el hígado con la división funcional. Como otras

glándulas exocrinas, el lobulillo seria aquella porción de parénquima que elimina su secreción en un conducto excretor. En el hígado esta porción de parénquima la constituye el lobulillo porta, entendiendo por tal el tejido que rodea a un área porta, porque es ella la que contiene el conducto biliar en el cual vacían su secreción exocrina las trabéculas hepáticas vecinas.

Otra manera de estudiar la arquitectura hepática es entendiendo esta como un conjunto de acinos. El acino es una unidad estructural, no es unidad secretoria ni es subdivisión del lobulillo clásico ni portal. Es la porción de parénquima que recibe la sangre de las ramas de los vasos de un espacio porta y que drena la bilis a un conducto de Hering. En su centro, y a modo de columna vertebral, se sitúan las ramas, que salen perpendicularmente, de los vasos del espacio porta, ramas a su vez de la arteria hepática y de la vena porta, y los conductos que drenan la bilis en el conducto biliar, a saber, los conductos de Hering (también llamados conductos terminales) y los conductos transicionales.

Según la distancia a la que estén de esta "columna vertebral", Rappaport distinguió tres zonas dentro del acino: la zona I sería aquella que está más próxima al centro y que recibe sangre con más cantidad de oxígeno y nutrientes; la zona II sería una región intermedia; la zona III sería la región del acino más cercana a la vena centrolobulillar y, por tanto, la más pobre en oxígeno y nutrientes. (figura 1)

El parénquima hepático dentro del acino está formado por trabéculas de hepatocitos separadas por sinusoides.

Las trabéculas son hileras dobles de hepatocitos que forman un conductillo entre ambas por el que discurre su excreción denominado canalículo biliar. Estas hileras se extienden desde el centro del acino hasta la vena centrolobulillar y están separadas de los sinusoides por el espacio de Disse. Este espacio real está relleno de plasma y fibras reticulares, continuación de las que rodean las trabéculas, así como de algunas células intersticiales o lipocitos de función poco conocida aunque actuarían como soporte de los sinusoides.

Los sinusoides son capilares sanguíneos de estructura algo distinta a los capilares del resto de la economía. Están recubiertos por una hilera de células endoteliales fenestradas. Entre ellas se sitúan esporádicamente unas células de aspecto estrellado y núcleo grande derivadas de los monocitos y que actúan como macrófagos, denominadas células de Kupffer.

La secreción exocrina del hígado, la bilis, es producida por los hepatocitos, excretada a los canalículos biliares y transportada de éstos a los conductos transicionales, conductos terminales, conductos biliares y de aquí al sistema excretor extrahepático.

B. CITOLOGIA NORMAL

HEPATOCITO: es una célula epitelial poliédrica de citoplasma amplio, moderadamente eosinófilo y rico en glucógeno y lípidos. Posee abundantes organelas, especialmente mitocondrias (mil o más por célula), ribosomas libres y unidos al retículo endoplásmico, aparato de Golgi y lisosomas, principalmente cerca del polo

secretor. Su núcleo es grande, redondo y generalmente de posición central. La mayoría de los hepatocitos son mononucleados, pero hasta un 25 por 100 de ellos son binucleados y además se aprecian variaciones considerables en tamaño de los núcleos. Su cromatina es laxa, distribuida generalmente próxima a la membrana nuclear. El nucléolo es central y muy basófilo.

La membrana celular tiene tres aspectos distintos según su situación: a) la zona que se relaciona con el espacio de Disse tiene abundantes microvellosidades que sobresalen hacia dicho espacio para aumentar la superficie de absorción, b) la que está en contacto con los hepatocitos vecinos presenta indentaciones que se imbrican con las indentaciones de sus vecinos y c) la que forma la pared del canalículo biliar presenta evaginaciones e invaginaciones muy irregulares que varían según la cantidad de bilis del canalículo.

CANALICULO BILIAR: está formado por la superficie excretora de dos o tres hepatocitos contiguos, unidos por complejos de unión (zónula ocludens, zónula adherens y desmosomas). Los canalículos comienzan en fondos de saco ciegos dentro de las trabéculas hepáticas y se anastomosan unos con otros hasta alcanzar los conductos transicionales.

CONDUCTOS TRANSICIONALES: son las primeras estructuras que transportan bilis rodeadas por células propias. Estas células lindan por un lado con la luz del canalículo y no se apoyan sobre una membrana basal. Es discutido si forman uniones tipo ocludens con los hepatocitos que forman el canalículo. Desembocan en los conductos terminales.

CONDUCTOS TERMINALES O DE HERING: están formados por dos o tres células ductulares planas rodeadas por una membrana basal. Estas células son pequeñas, con escaso citoplasma, que contiene poca cantidad de retículo endoplásmico rugoso, mitocondrias, moderado número de ribosomas libres y aparato de Golgi. No contienen glucógeno. Están unidas unas a otras por complejos de unión. Desembocan en los conductos biliares.

CONDUCTOS BILIARES: sus paredes están formadas por un epitelio cúbico de células ductulares, que se hace cilíndrico a medida que el calibre del conducto aumenta. El epitelio descansa sobre una membrana basal. Estos conductos se anastomosan hasta formar los conductos hepáticos principales que salen del hilio.

LINFÁTICOS: se localizan en los espacios porta, cápsula del hilio y en el tejido conjuntivo que rodea a las venas hepáticas. Su estructura es semejante a la de otros linfáticos de la economía.

CÉLULAS DE KUPFFER: son macrófagos. Presentan un contorno irregular con pseudópodos entre las células endoteliales y buena parte de su superficie está en contacto directo con la sangre del sinusoides. En su citoplasma existen vesículas pino y fagocíticas, abundantes mitocondrias, lisosomas y aparato de Golgi. Su núcleo es grande, irregular, denso y muy basófilo. Son células peroxidasa positivas.

CÉLULAS ENDOTELIALES DE LOS SINUSOIDES: son células endoteliales perforadas por fenestras de 0.1 micras de diámetro. Estas fenestras no presentan diafragma y se disponen en grupos que Wisse denominó "placas de criba". Debajo de estas células no

existe lámina basal, por lo que las fenestras constituyen una comunicación abierta entre la luz del sinusoides y el espacio de Disse. Tienen inclusiones intranucleares y su citoplasma es rico en microtúbulos y microfilamentos y vesículas de pinocitosis. Presentan escasa cantidad de retículo endoplásmico liso. Se unen unas a otras mediante complejos de unión.

LIPOCITOS: son células almacenadoras de grasa, localizadas entre hepatocitos, próximas al espacio de Disse. Son, por tanto, células intersticiales del parénquima con prolongaciones en su citoplasma hacia el espacio de Disse y las células endoteliales. Su función es poco clara pero, al menos, soportan el recubrimiento endotelial del sinusoides.

3. TUMORES HEPATICOS PRIMARIOS: CLASIFICACION

BENIGNOS:

A. EPITELIALES

- Adenoma ductal
- Adenoma hepatocelular
- Cistoadenoma ductal
- Papilomatosis biliar intrahepática

B. NO EPITELIALES

- Hemangioma
- Hemangioendotelioma infantil
- Seudotumor inflamatorio

MALIGNOS:

A. EPITELIALES

- Carcinoma hepatocelular:
 - . típico
 - . diminuto
 - . de células claras
 - . de células fusiformes
 - . carcinosarcoma
 - . fibrolamelar
 - . de células gigantes
 - . esclerosante

- Hepatoblastoma
- Colangiocarcinoma
- Hepatocolangiocarcinoma
- Cistoadenocarcinoma ductal
- Carcinoide

B. NO EPITELIALES

- Hemangiosarcoma
- Hemangioendotelioma epitelioides
- Sarcoma embrionario indiferenciado
- Rabdomiosarcoma
- Linfoma
- Otros sarcomas y tumores raros

4. ESTUDIO EPIDEMIOLOGICO ESTADISTICO DEL CANCER DE HIGADO

Analizando las defunciones según la causa de muerte, disponibles desde el año 1975 hasta 1991 (fecha del último censo y de las estadísticas del movimiento natural de población), aparece una diferencia importante en los casos recogidos hasta 1982 y los datos de los años siguientes en cuanto al diagnóstico. Ello es debido, posiblemente (ha sido imposible verificarlo), al cambio brusco de criterio a la hora de certificar la causa de la defunción en el Boletín Estadístico de Defunción (vigente desde 1975 sin cambios). (53, 54, 55)

Teniendo en cuenta esta notable falla, podemos realizar las siguientes consideraciones.

Desde el año 1975 hasta 1991 no ha variado de forma significativa el número de tumores malignos de hígado y de los conductos biliares intrahepáticos (cod.155, CIE 9a.), en términos absolutos. Así, desde 1975 hasta 1981 han sido dignosticadas una media de 4076 muertes anuales debidas a este tumor (y 63 casos de tumor de hígado no especificado como primario o secundario). Desde 1982 hasta 1991 han sido diagnosticados 1605 casos anuales (y 2573 casos de hígado no especificado como primario ni secundario).(tabla I)

En términos relativos hemos pasado de una tasa de mortalidad de 12.09 por 100.000 hab./año en 1975, a una de 9.9 en 1981, una de 2.5 en 1986 y 4.8 en 1991. (tabla II)(figura 2)

Analizando estos dos grupos y considerando el tipo de tumor y el sexo, vemos que, en el primer período, el número de tumores

primarios de hígado (cod, 155.0,CIE 9a.) no ha variado de forma significativa, con una media de muertes anuales de 4104 y una tasa de 9.88 muertes por 100000 hab/año. Por sexos tampoco existen diferencias significativas. (figuras 3, 4 y 5)

Con respecto a los tumores de los conductos biliares intrahepáticos (cod.155.1,CIE 9a.) se ha producido un aumento progresivo del número de casos, por igual en ambos sexos, desde 1975 hasta 1981, siendo un tumor ligeramente más frecuente en el sexo femenino. El número total de casos ha pasado de 4 a 17, con una tasa de 0.04 por 100.000 hab/año.

En el segundo período, de 1982 a 1991, el número de casos de tumor hepático primario descendió bruscamente entre los años 1984 y 1985 para ir aumentando posteriormente hasta 1991. La misma tendencia ocurrió en los dos sexos, aunque en este período sí es más frecuente este tumor en el sexo masculino con una media de 907 casos para los hombres y 440 para las mujeres. Las tasas de mortalidad han variado de 3.46 a 6.37 en los hombres y de 1.32 a 2.3 en las mujeres.

Los tumores de los conductos biliares intrahepáticos han continuado aumentando progresivamente sin que existan diferencias entre ambos sexos. La tasa de mortalidad global ha pasado de 0.17 en 1986 a 0.5 en 1991. (figuras 6, 7 y 8)

En la Comunidad de Madrid el carcinoma hepatocelular fue el responsable de 294 muertes en 1981, lo que representa el 0.97% de los fallecimientos, mientras que diez años más tarde la tasa ascendió a 449 muertes, lo que supone el 1.25% de los óbitos. (Estadísticas del movimiento natural de población).

No se observan variaciones significativas para la población general, pero sí cuando se estudian ambos sexos por separado, en que aparecen, partiendo de tasas similares en 1975, tendencias divergentes. Así, en los varones se produjo un incremento significativo entre 1985 y 1986 y un incremento medio anual desde este año hasta 1991 de un 2.1%, mientras que en las mujeres se produjo un descenso desde 1975 hasta 1981 para pasar a estabilizarse a partir de ese año.

TABLA I. Defunciones por tumores hepáticos.

AÑO	HIGADO PRIMARIO			CONDUCTOS BILIARES			TOTAL	NO ESPECIF.
	V	M	T	V	M	T		
1975	1974	2367	4341	11	4	15	4356	50
1976	1987	2230	4217	3	1	4	4221	-
1977	1958	2105	4063	2	4	6	4069	-
1978	2068	2162	4230	7	9	16	4246	-
1979	2049	2075	4124	4	7	11	4135	-
1980	2066	1963	4029	4	10	14	4043	153
1981	1953	1772	3725	10	7	17	3742	243
1982	2158	1770	3928	11	18	29	3957	17
1983	1468	1202	2670	19	17	36	2706	1416
1984	579	26	605	26	28	54	659	3273
1985	457	226	683	22	27	49	732	3228
1986	655	259	914	34	32	66	980	2935
1987	807	372	1179	40	50	90	1269	2635
1988	902	456	1358	54	51	105	1463	2537
1989	1017	451	1468	64	71	135	1603	2538
1990	1066	503	1569	80	72	152	1721	2394
1991	1214	464	1678	101	95	196	1874	2202

Fuente: Instituto Nacional de Estadística.

TABLA II. Tasas de mortalidad. (*)

AÑO	HIGADO PRIMARIO			CONDUCTOS BILIARES			TOTAL
	V	M	T	V	M	T	
1975	11.1	12.8	12	0.06	0.02	0.04	12
1981	10.5	9.23	9.88	0.05	0.03	0.04	9.9
1986	3.46	1.32	2.39	0.18	0.16	0.17	2.5
1991	6.37	2.3	4.3	0.53	0.47	0.5	4.8

(*) Muertes por 100.000 habitantes/año.

Fuente: Instituto Nacional de Estadística.

5. CARCINOMA HEPATOCELULAR

A. GENERALIDADES

Sinónimos: carcinoma hepatocelular, carcinoma hepático primario, hepatoma maligno.

El término "hepatoma" aun se usa para designar cualquier tumor que se origina en el hígado y, por extensión, al hepatocarcinoma; esta nomenclatura no tiene un significado histológico preciso y debe ser abandonada.

El carcinoma hepatocelular es la neoplasia epitelial maligna primaria más frecuente del hígado suponiendo el 77% de ellas (Edmondson). Es un tumor maligno derivado de los hepatocitos y habitualmente asociado a cirrosis. Presenta diversos tipos anatomopatológicos y clínicos y su pronóstico puede variar de acuerdo con la extensión del tumor en el momento del diagnóstico y con las condiciones asociadas.

España, como otros países mediterráneos, pertenece a una zona de incidencia media, en contraste con la Europa del Norte, donde la incidencia es baja. Sin embargo, algunos estudios realizados en necropsias sugieren que la incidencia del carcinoma hepatocelular en nuestro país ha aumentado en la última década.

(34, 212)

Es cada vez más evidente que los factores genéticos y raciales tienen menos importancia en la distribución del tumor que los factores ambientales. ⁽⁸⁶⁾

B. EPIDEMIOLOGIA

El carcinoma hepatocelular es una neoplasia altamente maligna, de pronóstico extremadamente malo y con una incidencia de un millón de casos por año en todo el mundo. El mayor problema al que nos enfrentamos para describir la epidemiología de estos tumores es la escasa e incompleta información que poseemos de muchos países, principalmente de aquellos que tienen más alta incidencia de esta patología.

Teniendo esto en cuenta podemos afirmar que los países del Este asiático y Centro-Este africanos son los de mayor incidencia de hepatocarcinomas, mientras que los países Occidentales y Norte-africanos son los de menor incidencia (figura 9)

En cuanto a factores raciales, los blancos tienen una baja incidencia, incluso en áreas de tasas altas de estos tumores, mientras que los chinos mantienen altas tasas allá donde vayan. Se ha señalado que esto estaría influido por el estilo de vida de los blancos y el medio en que viven, pero las diferencias persisten después de muchas generaciones de blancos que viven en países de alta incidencia, aunque en menor grado. Así, los hindúes que viven en Singapur, Hong-Kong y Sudáfrica desde mediados del siglo XIX presentan unas tasas doble de las observadas en sus respectivos países de origen.

La población negra de Estados Unidos muestra una incidencia que se sitúa en el límite superior de la incidencia de la población blanca ⁽¹⁵²⁾.

Además de las variaciones entre distintas etnias, existen diferencias significativas entre grupos racialmente homogéneos.

En algunos países estas diferencias se han atribuido a las distintas tasas de portadores del virus B de la hepatitis ⁽⁹⁵⁾, diferencias entre regiones con distintas condiciones climáticas debido a diferente exposición a la aflatoxina ⁽¹⁶¹⁾.

En las áreas de alto riesgo existe una notable concordancia entre la prevalencia de hepatocarcinoma y la infección por virus B de la hepatitis. En tales zonas, casi siempre están presentes los marcadores del virus B en los pacientes con la neoplasia. Aun más, la enfermedad tiende a ser fulminante y a presentarse por debajo de los cuarenta años de edad, y con una relación varón-mujer de 3:1. Por el contrario, en áreas de bajo riesgo, los marcadores para el virus B se encuentran en menos de la mitad de los pacientes y la neoplasia tiende a aparecer en varones cirróticos de edad avanzada y sigue un curso subagudo (relación varón-mujer 9:1).

En los países occidentales algunos factores como el tabaco, alcohol, exposición industrial y contaminantes químicos, pueden contribuir a las diferencias regionales en la incidencia tumoral ⁽¹⁷⁵⁾, aunque la importancia de estos factores está aún por determinar.

En la última década se ha descrito un aumento de la incidencia de los tumores hepáticos primitivos de un 3% a un 6% por año, sobre todo en países con baja incidencia. Una de las causas de este incremento es la mejoría en el diagnóstico de esta enfermedad y la mayor supervivencia de los pacientes con cirrosis.

Sin embargo en los países de incidencia alta, el índice de casos nuevos ha disminuido debido, quizás, a la mejoría en las condiciones sanitarias de su población.

C. ETIOLOGIA

Cualquier discusión sobre la etiología del carcinoma hepatocelular nos conduce cada vez más al papel que juega el virus B de la hepatitis pero, ni la infección por este virus es directamente oncogénica ni es el único factor a tomar en consideración ya que está demostrado que el alcohol, diversos compuestos químicos, hormonas, nutrición, presencia o ausencia de cirrosis, etc, tienen relación con la génesis de estos tumores. (Tabla III)

TABLA III. Factores de riesgo de hepatocarcinoma en pacientes con hepatopatía crónica.

<u>Variable</u>	<u>Razón</u>	<u>CHI-cuadrado</u>
Sexo:		
Varón	1.33	0.54
Mujer	1.00	
Edad:		
60-69	6.46	0.007
50-59	2.88	0.12
Hepatopatía:		
Cirrosis	1.93	0.03
H.cronica	1.00	

Afetoproteína:		
> 100ngr/ml	3.27	0.02
20-99ngr/ml	3.21	0.0002
< 20 ngr/ml	1.00	
HBs-Ag:		
Positivo	6.92	0.0001
Negativo	1.00	
HBc-Ac:		
Alto	4.54	0.003
Bajo	1.31	0.37
Negativo	1.00	
HCV-Ac:		
Positivo	4.09	0.02
Desconocido	5.77	0.002
Negativo	1.00	
Fumador:		
Frecuente	2.30	0.08
Antiguo	1.68	0.30
No	1.00	
Bebedor:		
Frecuente	1.15	0.82
Ocasional	0.77	0.71
No	1.00	

Fuente: Tsukuma et al. "Factores de riesgo del hepatocarcinoma" Japon.

EDAD:

En los países de bajo riesgo, la incidencia del hepatocarcinoma aumenta con la edad, sin embargo en áreas de alta incidencia la edad de aparición es mucho menor. En Africa y en los países del Sudeste asiático, la enfermedad aparece entre la 3ª y 5ª décadas de la vida, mientras que en los países occidentales la edad media de aparición está en la 5ª o 6ª décadas. Estas diferencias se han explicado por la diferente intensidad de la exposición a carcinógenos tales como aflatoxinas y virus B en ambas áreas. Los tumores que aparecen en niños y jóvenes suelen estar relacionados con trastornos genéticos o con la variedad de hepatocarcinoma fibrolamelar, que tiene predilección por los jóvenes.

SEXO:

En general los hombres son más propensos a desarrollar tumores hepatocelulares que las mujeres. La relación hombre/mujer es mayor en las áreas donde el tumor es común, cifrándose de 4:1 a 8:1. La diferencia es más marcada en grupos de personas jóvenes. En áreas de baja incidencia, por ejemplo Europa o Estados Unidos, la relación es de 2:1 a 3:1.

En la infancia, la relación varón-hembra es casi igual debido al papel de las enfermedades congénitas en la etiología de estos tumores en esa edad. No se conoce la causa del predominio masculino de esta enfermedad aunque se ha señalado que la mayor prevalencia de infección crónica por virus B en los varones y la existencia de receptores de andrógenos en estos tumores pueden tener relación con ello.

FACTORES GENETICOS:

Existe poca evidencia de la determinación genética de los hepatocarcinomas. Ni la distribución de los grupos sanguíneos ⁽³⁷⁾, ni los niveles de inmunoglobulinas, ni la respuesta de los linfocitos T ni B ⁽¹⁶⁶⁾, han demostrado relación con estos tumores. Sólo se ha descrito una asociación entre el HLA-B35 y el estado portador de la hepatitis B en el Sudeste asiático ⁽¹⁰¹⁾.

FACTORES CONGÉNITOS:

Se han descrito hepatocarcinomas en varios defectos congénitos y errores del metabolismo. Entre ellos destacan:

- **glucogenosis tipo I:** la mayoría son adenomas pero algunos son carcinomas.

- **tirosinemia:** es el defecto congénito más frecuentemente asociado a carcinoma hepatocelular, en algunas series el 40% de los enfermos. Los niveles elevados de alfa-fetoproteína, aunque no exista un tumor, en estos pacientes revela una alteración de la regeneración hepática subyacente.

- **porfirias:** porfiria cutánea tarda y porfiria aguda intermitente.

- **déficit de alfa-1-antitripsina:** aunque se sugirió la relación de este déficit con el carcinoma hepatocelular, actualmente existen estudios contradictorios que afirman o niegan dicha afirmación. Está demostrado que estos enfermos desarrollan hepatitis crónica activa y cirrosis criptogenética, principalmente los PiZ, pero se discute el papel de este déficit en el desarrollo del carcinoma.

- **hemocromatosis:** un 22% de estos enfermos desarrollan hepatocarcinomas ⁽¹⁶⁷⁾ y cuanto más viva el enfermo, mayor es el riesgo de desarrollarlo, a pesar de que se elimine la sobrecarga

de hierro.

Otras enfermedades asociadas son: fibrosis hepática congénita, situs inversus, poliposis cólica familiar, telangiectasia hemorrágica hereditaria, neurofibromatosis, esferocitosis hereditaria, talasemia, enfermedad de Wilson.

Muchas otras enfermedades se acompañan de mayor incidencia de estos tumores pero su causa es más por la cirrosis que presentan que por el defecto primario en sí.

ALCOHOL:

Los pacientes con tumores hepatocelulares a menudo presentan antecedentes de alcoholismo, sobre todo en áreas de baja incidencia de infección por virus B. Aunque en la mayoría de estos casos el tumor aparece sobre un hígado cirrótico, no todos los alcohólicos que desarrollan hepatocarcinomas son cirróticos. Para Edmondson el 48% de los cirróticos con hepatocarcinomas tienen en el momento del diagnóstico, hepatopatía alcohólica, mientras que el 4.6% de los pacientes con cirrosis alcohólica tienen hepatocarcinoma asociado. En una serie, hasta el 30% de los alcohólicos con hepatocarcinomas no eran cirróticos ⁽¹¹⁴⁾.

Las hipótesis que se barajan sobre el efecto carcinogénico del alcohol son:

- a) el alcohol y sus metabolitos, principalmente el acetaldehído, provocan mutaciones en cultivos de tejidos humanos,
- b) producción de derivados electrofílicos de moléculas que alteran el metabolismo celular y
- c) trastornos del metabolismo esteroideo.

Por tanto, el alcohol actúa como co-carcinógeno de otros factores relacionados con la etiología de estos tumores.

NUTRICION:

Al ser la malnutrición un hecho frecuente en las áreas de alta incidencia de tumores hepáticos, se ha intentado relacionarla con los hepatocarcinomas. No hay evidencia de que exista una relación directa entre ambos hechos sino que serían otros factores etiológicos, también frecuentes en estas áreas (infección por virus B, exposición a micotoxinas), los más relacionados con esta alta incidencia. Tampoco está demostrado que otros déficits nutricionales tengan importancia en la patogénesis de esta enfermedad.

PARASITOS:

Aunque la infección por parásitos se asocia etiológicamente al colangiocarcinoma, su influencia en la génesis del hepatocarcinoma es dudosa. Las infecciones por *Squistosoma mansoni*, *haematobium* y *japonicum* están relacionadas con fibrosis hepática e hipertensión portal. Los que desarrollan cirrosis se han asociado a infección por virus B y algunos de estos progresan a hepatocarcinoma. Es por tanto discutible que la sola infección por el parásito conduzca al desarrollo de la neoplasia.

MICOTOXINAS:

Experimentalmente se ha demostrado que diversas micotoxinas tienen efectos carcinogénicos en animales.

a) - AFLATOXINAS: son sustancias producidas por el hongo *Aspergillus flavus*. En áreas de clima húmedo y cálido, el hongo crece en comestibles almacenados durante largo tiempo (cacahuets,

soja, trigo, arroz, maíz, algodón, judías, cebada) y produce estos metabolitos. Se han aislado cuatro aflatoxinas denominadas B1, B2, G1 y G2, de las cuales la B1 es la más potente. Sus efectos van desde la necrosis aguda del hígado, hasta la displasia y desarrollo de hepatocarcinoma. En algunos animales, se han relacionado con el desarrollo de tumores de la vesícula biliar, páncreas, hueso y vejiga.

Se ha demostrado la unión de la aflatoxina B1 al genoma de los hepatocitos y se ha postulado que el efecto carcinogénico de esta aflatoxina podría deberse a una mutación provocada en el DNA del hepatocito. ⁽¹⁰⁰⁾

b) - STERIGMATOCISTINA: es un metabolito tóxico producido por tres hongos: *Aspergillus versicolor*, *Aspergillus nidulans* y especies de *Bipolaris*. Su acción es semejante a la de las aflatoxinas aunque menos potente.

c) - LUTEOSKIRINA y CICLOCLOROTINA: son producidas por especies de *Penicilium islandicum* que se encuentra habitualmente en el arroz cocido y cereales en Japón, Etiopía y Sudáfrica. Su efecto cancerígeno está demostrado en animales pero no en el hombre.

COMPUESTOS QUIMICOS:

Multitud de agentes químicos han demostrado su capacidad carcinogénica en animales y algunos de ellos también en el ser humano. Los más conocidos son el cloruro de vinilo y el Thoro-trast (suspensión coloidal de dióxido de torio utilizado como contraste radiológico entre los años 20 y 50), ambos se han relacionado directamente con la patogénesis del hemangiosarcoma hepático, hepatocarcinoma y colangiocarcinoma.

Otros compuestos también cancerígenos son los pesticidas organoclorados (DDT, dieldrina, hexaclorobenceno, lindane, etc), los solventes (tetracloruro de carbono), bifenilos policlorados, arsénico, etc.

MEDICAMENTOS:

Los medicamentos más importantes asociados a tumores hepáticos son los anticonceptivos orales y los esteroides anabolizantes. Se han relacionado sobre todo con adenomas e hiperplasia nodular focal pero se han descrito casos de hepatocarcinomas, colangiocarcinomas y hemangiosarcomas ⁽¹¹⁸⁾.

Hasta ahora se creía que los anticonceptivos orales producían adenomas hepáticos y los esteroides anabolizantes carcinomas hepatocelulares. Actualmente se acepta que algunos de los tumores inducidos por estos agentes son malignos aunque tienen la característica de que no producen alfa-fetoproteína y no metastatizan. Algunos incluso regresaron tras interrumpir la administración del fármaco. Son pues histológicamente malignos pero biológicamente tienen un comportamiento benigno.

Entre los anticonceptivos orales más relacionados con esta enfermedad están el mestranol y el etinilestradiol y entre los esteroides andrógenicos destacan la metiltestosterona, oximetona y noretandrolona. Estos últimos producen peliosis hepática, pero no los anticonceptivos orales.

VIRUS DE LA HEPATITIS B:

Existe una fuerte evidencia de que este virus está implicado en la patogénesis del hepatocarcinoma, pero esta relación es más compleja que la causa-efecto directa.

Los datos que conducen a afirmar esto son los siguientes:

a) - la prevalencia del estado de portador del virus B y la incidencia de carcinoma hepatocelular, están estrechamente unidos. Los mapas de distribución por áreas de ambas situaciones coincide, salvo escasas excepciones, ⁽¹²⁹⁾ (esquimales de Groenlandia) ⁽¹⁸³⁾. Esta asociación entre virus B y hepatocarcinoma es universal.

b) - estudios de casos-control y de cohortes demuestran una frecuencia mucho mayor de marcadores positivos de virus B en pacientes con hepatocarcinoma que en la población general. Además, en las áreas de alta incidencia de hepatocarcinoma, hasta el 80% de los pacientes tienen antígeno de superficie del virus B en sangre y hasta el 100% anticuerpos anti-HBc, frente al 60% en los países de baja incidencia. El riesgo de morir de carcinoma hepatocelular y/o cirrosis en pacientes infectados crónicamente por virus B es del 40 al 50%.

c) - en los países donde la infección por virus B aparece en la infancia o en el período neonatal, la neoplasia aparece en individuos más jóvenes que en aquellos en los que la infección tiene lugar a edad más avanzada.

d) - mediante técnicas de inmunohistoquímica se ha detectado la presencia de antígenos s y c del virus B en hepatocitos tumorales. Asimismo, se ha localizado el DNA viral en el genoma de estas células. Esta integración se produciría durante el curso de la infección crónica y precede al establecimiento de la neoplasia ⁽¹⁸⁰⁾. El cultivo celular de hepatocarcinoma ha demostrado la producción de antígenos del virus B.

e) - existe un modelo animal de hepatocarcinoma que parece estar causado por un agente íntimamente relacionado con el virus B. Las marmotas de Norteamérica tienen una elevada incidencia de hepatitis crónica activa y hepatocarcinoma. En algunas de estas neoplasias se han identificado partículas virales, con reactividad cruzada con el virus de la hepatitis B, integradas en el genoma de las células tumorales. (figura 10)

Estudios recientes sugieren que, en algunos pacientes, el virus podría tener un efecto directo en la transformación neoplásica de la célula debido a la inserción de su genoma en los genes reguladores del crecimiento celular.^(213,164)

El DNA viral se integra en el genoma de los hepatocitos en estadios precoces de la infección, produciendo microdelecciones y reagrupamientos de cromosomas. Esto activaría o desactivaría genes del hepatocito implicados en la regulación del crecimiento celular pues se ha demostrado que el genoma del virus B no porta oncogenes. Sin embargo, la coexistencia de cirrosis en la mayoría de los pacientes adultos con hepatocarcinomas, sugiere que el proceso de necrosis y regeneración continuas juega un papel fundamental en la transformación neoplásica.

VIRUS C DE LA HEPATITIS:

La prevalencia de la infección por virus C de la hepatitis varía de unas áreas geográficas a otras. Japón y el sur de Europa son áreas endémicas (el 1 a 1.5% de la población general poseen anticuerpos anti-virus C), mientras que en el norte de Europa y Estados Unidos tienen una prevalencia baja (0.6% a 0.8%) ^(33,91). Los pacientes infectados por el virus C de la hepatitis tienen un riesgo muy aumentado de desarrollar un cáncer de hígado ^(207,211).

Desde que en 1989 Choo y cols. clonaran el genoma del virus C de la hepatitis, los anticuerpos frente a este virus se han detectado por ELISA entre el 39 y el 77%, en series occidentales (22,32,78,182,174), y entre un 29 a un 76%, en series japonesas (145,196), de los casos de carcinoma hepatocelular AgHBs-negativo, porcentaje que se incrementa aproximadamente un 12% si se emplean tests de segunda generación (RIBA-II) (131,150). Esta prevalencia es superior a la de la infección activa por virus B en los países occidentales; no ocurre así en las áreas geográficas con mayores tasas de infección crónica por virus B (99). También es mayor la cifra de infección por virus C en pacientes con hepatocarcinoma en áreas no endémicas de infección por virus B que en las zonas endémicas. Así, la prevalencia de anticuerpos frente al virus C en pacientes con hepatocarcinomas AgHBs-negativo en Taiwan y Sudáfrica son del 44.8% y 32.1% respectivamente (43,99).

La coinfección por ambos virus representa el 5.6 al 25% de los pacientes con carcinoma hepatocelular. Diversos estudios indican que el virus C y el virus B son factores de riesgo independientes para desarrollar un carcinoma hepatocelular y la acción oncogénica combinada de ambos virus no es significativa (87,185). Se ha sugerido por varios autores que, al igual que ocurre con el virus delta, la coinfección por virus C produciría la supresión del virus B (60,21,16,113) lo que explicaría la evolución clínica más lenta, menos agresiva y los bajos niveles de DNA del virus B en el suero de estos pacientes.

Por otro lado, se han descrito pacientes en los que se ha observado la progresión en el tiempo de hepatitis aguda pos-transfusional a hepatitis crónica, cirrosis hepática y hepatocarcinoma. (104,216) Los pacientes con hepatopatía AgHBs-positivo

desarrollan el tumor a edad menor que los pacientes con hepatopatía por virus C ^(87,38,221). El motivo de esta diferencia no se conoce, aunque se ha postulado que sea debido bien a que la hepatitis crónica por virus C se desarrolle más lentamente que la debida a virus B, bien a que la infección se produce a edades más tardías. ^(151,48)

La prevalencia de anticuerpos contra el virus C en pacientes con carcinoma implantado sobre cirrosis alcohólica es superior a la encontrada en pacientes con sólo cirrosis alcohólica, lo que no ocurre en casos de pacientes con cirrosis criptogenética con y sin carcinoma ^(22,157).

Utilizando anticuerpos monoclonales frente a proteínas estructurales del virus, se ha detectado su presencia en el citoplasma y el núcleo de los hepatocitos en casos de hepatitis crónica y hepatocarcinoma con serología positiva.⁽³⁶⁾

Todos estos datos sugieren que este virus podría desempeñar un papel importante en la patogénesis del hepatocarcinoma bien como factor único, bien como cocarcinógeno. ^(30,108) Es preciso subrayar que el virus C no se integra en el genoma de la célula huésped, por lo que no puede ser directamente oncogénico ^(119,113,222). La infección por virus C predispondría al desarrollo de un hepatocarcinoma de forma indirecta, a través de la inducción de inflamación y daño hepatocelular crónico. ⁽¹¹³⁾

Recientemente se ha demostrado que en los países donde la infección por virus B no es endémica, una alta proporción de los pacientes con hepatocarcinoma presentan anticuerpos contra el virus C. Además, en los países con una alta tasa de infección por

virus B y de hepatocarcinomas en pacientes con positividad al antígeno AgHBs, la incidencia de hepatocarcinomas en pacientes con serología positiva al virus C es baja. Este es un factor etiopatogénico del carcinoma hepatocelular cada vez más importante en los países occidentales hasta el punto de que algunos autores han citado la edad, el sexo masculino y la infección por virus C, como los únicos factores de riesgo, significativamente relacionados con el desarrollo de hepatocarcinoma, en los pacientes cirróticos de los países mediterráneos. ^(32,146)

El 14% de los pacientes con estos tumores, en series japonesas, y el 30% en series occidentales, no tienen positividad ni al virus B ni al virus C ⁽¹¹³⁾. Estos resultados serían parcialmente debidos a insuficiente sensibilidad de los tests diagnósticos disponibles, pero en el resto habría que buscar otros factores etiológicos. Por otro lado, esto indica que más del 70% de los hepatocarcinomas no asociados a alcoholismo, muestran etiopatogenia viral.

En los pacientes con colangiocarcinomas se ha demostrado positividad a anticuerpos anti-virus C en el 30% de los casos y en los hepato-colangiocarcinomas en un 71% de los mismos ⁽²⁰³⁾. Este dato sugiere que el virus C también tiene un efecto neoplásico sobre las células de las vías biliares, pero faltan estudios que comprueben este dato.

OTROS VIRUS:

El virus de la hepatitis Delta se ha relacionado con este tumor en una menor proporción de casos de lo esperado. Aun no se conoce el porqué de esta ausencia de correlación entre la coinfección por virus Delta y virus B con el hepatocarcinoma.

Otros agentes virales responsables de hepatopatías, tales como el virus de la hepatitis A, citomegalovirus, virus de Epstein-Barr, virus de la fiebre amarilla y virus de Marburg no se han asociado al desarrollo de hepatocarcinoma.

CIRROSIS:

Desde hace tiempo se ha demostrado la asociación entre cirrosis y carcinoma hepatocelular, pero existen variaciones considerables en la etiología, duración y morfología según las áreas. (Tabla IV).

La cirrosis es una situación patológica de diferentes etiologías, y, mientras se asume que el riesgo de degeneración maligna está aumentado en cualquiera de ellas, este riesgo es mucho mayor cuando se debe a hepatitis crónica por infección debida a virus B (15 al 25%), en la cirrosis pigmentada (15 al 30%) y en la tirosinemia. En la cirrosis alcohólica este riesgo se sitúa en un 3 al 5%. El factor de riesgo aproximado calculado para portadores de antígeno de superficie (AgHBs) de desarrollar cirrosis es de 16, y para éstos de desarrollar carcinoma es de 50. En España, el 80-90% de los hepatocarcinomas aparecen sobre hígados cirróticos, principalmente alcohólica (52%) ⁽²⁶⁾.

Asimismo, hasta en el 20% de los cirróticos fallecidos se encuentran hepatocarcinomas en la autopsia ⁽²²⁾.

En países occidentales, el hepatocarcinoma suele aparecer como una complicación de una cirrosis de larga evolución y se presenta como un deterioro clínico brusco. En Africa y el Sudeste Asiático, las dos enfermedades aparecen casi simultáneamente y la mayoría de los pacientes con hepatocarcinoma fallecen sin haber tenido ningún signo ni síntoma de cirrosis.

Además, en Occidente sólo el 5-15% de los pacientes con cirrosis (generalmente alcohólica) desarrollan carcinoma, mientras que en áreas de alta incidencia de estos tumores, el riesgo es mucho mayor (hasta un 50%) y claramente asociado a hepatitis B. Esta neoplasia también puede aparecer sobre un hígado no cirrótico; esto es más frecuente en áreas de alta incidencia, donde los pacientes son más jóvenes y frecuentemente portadores del virus B desde el nacimiento.

La morfología de la cirrosis asociada al hepatocarcinoma es casi siempre mixta (macro-micronodular) o macronodular, pero no micronodular.

En la patogénesis del carcinoma sobre la cirrosis se acepta que la degeneración maligna se produce por el aumento del recambio celular en la segunda, lo que facilitaría la actuación de carcinógenos sobre los hepatocitos y de la integración del DNA viral en el genoma celular.

En resumen, aunque el riesgo de malignidad en la cirrosis varía con la localización geográfica, etiología y morfología, ninguna forma de cirrosis esta exenta de ello.

TABLA IV. Patrones clinicopatológicos del hepatocarcinoma y de la cirrosis.

	América y Europa -----	Africa y Sudeste asiático -----
Incidencia de hepatocarcinoma	Baja	Alta
Incidencia de cirrosis	Alta	Baja (?)
Etiología de la cirrosis	Alcohólica	Hepatitis B y aflatoxinas
Duración de la cirrosis	Larga	Corta (?)
Morfología de la cirrosis	Micronodular	Macronodular
Hepatocarcinoma sobre cirrosis	80-90%	60-70%
De cirrosis a hepatocarcinoma	5-15%	Hasta un 40%

D. PATOLOGÍA

1. ASPECTO MACROSCÓPICO

Generalmente aparece como masas blanco-amarillentas, hemorrágicas, de consistencia aumentada, ocasionalmente teñidas de bilis y con tendencia a la necrosis. Eggel distingue tres tipos morfológicos: ⁽⁵¹⁾

- **Forma masiva o solitaria:** serían aquellos tumores que se presentan como una gran masa tumoral que crece sobre un hígado sin otras alteraciones. Ocasionalmente existen algunos nódulos satélites pequeños.
- **Forma multinodular:** se presentan como varios nódulos tumorales de tamaño parecido dispersos por todo el hígado, aparentemente no conectados, que crecen sobre un parénquima alterado frecuentemente cirrótico.
- **Forma difusa:** infiltración extensa del hígado por células tumorales.

La forma más frecuente es la primera, seguida por la multinodular. La más rara es la difusa. Los tres patrones pueden ocasionar hepatomegalia, particularmente la forma masiva y la multinodular, que también producen irregularidad palpable del borde hepático. Rara vez el tejido tumoral es extremadamente firme y arenisco, en relación con la poca reacción desmoplásica que producen.

Otros autores han descrito grupos y subgrupos morfológicos semejantes a la clasificación previa. La última revisión de autores japoneses (1987) distingue cuatro patrones: expansivo, infiltrativo, multinodular y difuso ⁽²⁰¹⁾.

Todos están de acuerdo en que el tumor es más frecuente en el lóbulo derecho que en el izquierdo y que el peso del hígado tumoral es mucho mayor en los países africanos y del sudeste asiático (países con elevada incidencia de esta enfermedad) que en cualquier otro sitio.

Se ha descrito la existencia de cápsula hasta en un 75% de estos tumores. Su presencia no está relacionada con el tamaño del tumor, aunque se relaciona con un mejor pronóstico debido a una menor incidencia de diseminación. Se acepta que una cápsula gruesa puede proteger, no solo contra la invasión directa del parénquima adyacente, sino también contra la invasión a través de la circulación venosa portal. El hepatocarcinoma tiene fuerte propensión a la invasión vascular y, así, unas veces la neoplasia se presenta como una gran masa alargada que crece en el interior de la vena porta, venas hepáticas, cava inferior o incluso el corazón. Se ha encontrado invasión de la vena porta en el 64.7% de los casos, de las venas hepáticas en el 23.3% y de la vena cava inferior o/y aurícula derecha en el 9%. ⁽¹⁴³⁾. Porcentajes similares han sido señalados previamente por Anthony ⁽⁷⁾ y por Peters ⁽¹⁶²⁾.

Se han descrito dos procesos diferentes en la formación de los nódulos metastásicos: crecimiento tumoral dentro de la vena porta (tipo portal) y crecimiento en un lobulillo hepático (tipo acinar). No obstante, estos dos tipos coexisten y el tipo

asignado es el del patrón predominante. Además, en la mayoría de los casos, los nódulos metastásicos muestran igual o mayor grado de diferenciación que el tumor primario.

En el tipo portal, los émbolos tumorales obstruyen ramas de la vena porta y se constituyen ellos mismos en nódulos metastásicos rodeados por tejido conjuntivo. Ocasionalmente, las células tumorales invaden este tejido envolvente. Varios de estos nódulos coalescen hasta formar un nódulo único grande, rodeado por una espesa capa de tejido conjuntivo denso.

En el tipo acinar, una o varias células tumorales aparecen en la luz de un sinusoides hepático y anidan, desarrollando nódulos metastásicos, a menudo múltiples, sin apenas tejido conjuntivo que lo separe del parénquima hepático. Algunos nódulos de este tipo son bien diferenciados en comparación con el tumor primario, designándose como aspecto normotrabecular, sin suponer esto un mejor comportamiento del tumor.

La obstrucción del flujo sanguíneo a través del hígado es el factor más importante en la patogénesis de la hipertensión portal, la cual puede desarrollarse sin existir cirrosis.

La irrigación del tumor procede de ramas de la arteria hepática como demostró Nakashima et al (1983) en un estudio de 152 casos en los que realizó angiografía postmortem. Este aporte a menudo es insuficiente y con frecuencia presenta fístulas arteriovenosas por lo que son frecuentes áreas de infarto tisular, ruptura vascular y hemorragias. También se ha descrito la invasión del sistema biliar extrahepático hasta en un 9% de los casos ⁽¹⁰⁶⁾.

Existen algunas variantes del patrón macroscópico que tienen utilidad tanto clínica como patológica:

- **hepatocarcinoma pequeño o diminuto:** es una variedad de hepatocarcinoma caracterizada por la presencia de un nódulo tumoral de pequeño tamaño (menor de 5cm), bien delimitado sin invasión vascular y rodeado por una cápsula gruesa.

- **hepatocarcinoma pedunculado:** aparece como un nódulo extrahepático tumoral de tamaño variable que puede originarse de un lóbulo accesorio o de tejido hepático ectópico y está unido a él por un pedículo vascular. Histológicamente corresponde a un hepatocarcinoma típico bien-moderadamente diferenciado.

Tiene preferencia por varones de la sexta década de la vida, sólo se asocia a cirrosis en las dos terceras partes de los casos y en la mayoría no existen datos de infección por virus B. La inmensa mayoría se han descrito en áreas de incidencia media ⁽⁶⁾.

Sólo la tercera parte son productores de alfafetoproteína y sólo en el 30% de los pacientes, el antígeno de superficie de la hepatitis B es positivo.

Algunos autores consideran a esta variante como una entidad distinta del hepatocarcinoma típico debido a sus características epidemiológicas, etiopatogénicas, analíticas y buen pronóstico.

- **hepatocarcinoma intrabiliar:** se presenta con ictericia intensa fluctuante durante el curso de la enfermedad. Esta forma es más frecuente en hígados cirróticos y tiene una supervivencia menor.

2. ASPECTO MICROSCÓPICO

a. ARQUITECTURA HISTOPATOLÓGICA:

La principal característica de la arquitectura del hepatocarcinoma es su semejanza a la del hígado normal; no obstante, existen otros patrones estructurales y mezcla de ellos.

- TRABECULAR o SINUSOIDAL: es el patrón que más se asemeja al hígado no tumoral, el que más frecuentemente aparece (75%) y el patrón básico del cual los otros derivan.

El tumor crece formando trabéculas de espesor variable, pero generalmente de más de dos células, separadas por canales vasculares neoformados de células endoteliales. No existen células de von Kupffer. Las células endoteliales se apoyan sobre una membrana basal y escasas fibras reticulares que se dispersan por un espacio lleno de plasma comparable con el espacio de Disse del hígado normal. Ocasionalmente los sinusoides están comprimidos por el tumor y éste parece sólido.

- PSEUDOGLANDULAR o ACINAR: destaca la presencia de unas estructuras rosetoides de hepatocitos tumorales, cuboidales o cilíndricos, semejantes a glándulas, con una luz central ocupada por bilis y detritus celulares, rodeadas por fibras reticulares.

La formación de estas pseudoglándulas puede deberse a alguno de los mecanismos siguientes:

* dilatación de los canalículos biliares de las trabéculas tumorales. Presenta dos variantes: a) la dilatación se acompaña de necrosis focal de la trabécula con la alteración consiguiente de

su estructura y b) patrón pseudopapilar: conexión de varios canalículos dilatados con la formación resultante de trabéculas alargadas de pocas células de espesor rodeadas por un laberinto de canalículos.

* necrosis tumoral focal o masiva de la parte central de la trabécula tumoral acompañada frecuentemente por la presencia de cúmulos de grasa intracitoplasmáticos, núcleos picnóticos en los hepatocitos y macrófagos cargados de grasa.

* fibrosis extensa: en tumores muy poco diferenciados con abundante estroma fibroso, las células tumorales a veces se disponen formando acinos rodeados por tejido conjuntivo denso. El mecanismo último de esta disposición no se conoce.

El contenido de estos acinos consiste en restos necróticos celulares, fibrina y exudado muy PAS-positivo pero sin que exista moco (característica esta última de los colangiocarcinomas).

Estas neoformaciones no debemos considerarlas como derivadas ni precursoras de los conductos biliares, sino como estructuras anormales formadas por hepatocitos neoplásicos. Las células tumorales diferenciadas, a menudo forman canalículos biliares abortivos con abundantes microvellosidades y tapones de bilis en su interior.

- COMPACTO o SOLIDO: con algunas excepciones, este patrón se debe a artefacto técnico, a cicatrización secundaria o a que el tumor no es de estirpe hepatocitaria. No obstante Omata et al. (1981) describieron 30 casos de tumores hepáticos de los cuales 19 los diagnosticaron de hepatocarcinomas.

Los canales vasculares de los hepatocarcinomas presentan varias diferencias con respecto a los sinusoides del hígado normal: sus paredes están formadas por una hilera de células endoteliales, continua, presentan membrana basal y existe pérdida de las microvellosidades de los hepatocitos tumorales en el espacio comparable al de Disse.

Asimismo, las células endoteliales también tienen algunas diferencias: no presentan fenestras aunque se ven algunos pequeños poros reminiscentes, mantienen la actividad endocitósica como revela la existencia de abundantes vesículas de pinocitosis y se encuentran abundantes cuerpos de Weibel-Palade en el citoplasma de las células más próximas a la luz vascular.

No existe diferencia en la morfología de los sinusoides ni de las células endoteliales entre los tres tipos morfológicos de tumores de células hepáticas, salvo un mayor espesor de la lámina basal en el tipo compacto.

Varios autores han llamado la atención sobre la ausencia de células de Kupffer ^(177,190), sin embargo, recientemente Ichida et al⁽⁸⁸⁾, en un estudio de microscopio electrónico, han demostrado la existencia de estas células en varios casos de hepatocarcinomas del tipo compacto, pero no las han hallado en ninguno de los casos estudiados de las formas trabecular y acinar.

A pesar de la ausencia de células de Kupffer, se demostró la presencia de macrófagos en el tejido tumoral, encargados de la fagocitosis de restos celulares durante la carcinogénesis y como expresión del mecanismo, de defensa del paciente frente al tumor. No obstante, Haratake et al. han confirmado la presencia

de macrófagos lisozima-positivo en todos los tipos de carcinomas hepatocelulares aunque en menor número que en el hígado normal (75).

b. CITOPATOLOGÍA

El hepatocito tumoral es una célula bizarra, con diferente aspecto según sea su grado de diferenciación, pero el más frecuente es el de una célula poligonal, pleomórfica, con citoplasma granular y eosinófilo, de núcleo grande hipercromático, generalmente vesicular, de cromatina irregularmente granular y nucléolo prominente. La membrana nuclear suele estar bien delimitada y el nucléolo suele ser de tamaño inusual. Los canalículos biliares a menudo son evidentes pero no siempre puede objetivarse la producción de bilis, bien como cúmulos intracitoplásmicos o bien como tapones canaliculares.

Se han descrito gran variedad de inclusiones intracitoplásmicas en estas células:

- **Cuerpos hialinos:** se hallan presentes hasta en el 15% de los carcinomas de células hepáticas. Son glóbulos homogéneos, eosinófilos que se tiñen de forma variada con otras técnicas (tricrómico, PAS, Ziehl-Nielsen). Mediante técnicas de inmunohistoquímica se ha comprobado que corresponden a cúmulos de alfa-fetoproteína, alfa-1-antitripsina, fibrinógeno, albúmina y ferritina principalmente.

- **Hialina de Mallory:** aunque en un primer momento se describió como hallazgo característico de la hepatitis alcohólica (15,63), también se observa en otras enfermedades tales como carcinoma hepatocelular, cirrosis biliar primaria y enfermedad de Wilson.

Está presente en un 4 a un 20% de los tumores y lo hace como cúmulos no homogéneos de material eosinofílico en forma de gotas que pueden coalescer y formar madejas enmarañadas perinucleares, indistinguibles de los que aparecen en la hepatitis alcohólica. A diferencia de esta última, en los hepatocarcinomas la hialina de Mallory suele tener una distribución periportal. Se desconoce su significado biológico y su patogenia. Nakamuna et al. creen que la hialina de Mallory aparece con mayor frecuencia en los tumores incipientes que en estadios avanzados, mientras que los cuerpos hialinos aparecen por igual en ambos tipos ⁽¹⁴⁰⁾.

Hoso et al señalaron que existe una mayor hiperploidía y/o aneuploidía en las células tumorales con hialina de Mallory que en las que no la presentaban. De este modo, los hepatocarcinomas con hialina de Mallory serían peor diferenciados y, por tanto, tendrían peor pronóstico que los que no la tienen⁽⁸¹⁾. Aún faltan estudios prospectivos que lo demuestren. La hialina de Mallory refleja una alteración de los filamentos de citoqueratina con la consiguiente desestructuración del citoesqueleto. Esta alteración puede estar asociada a un trastorno de la cinética celular del hepatocito tumoral seguida por un aumento del contenido de DNA. No obstante se desconoce el mecanismo que origina esta formación.

- **Grasa:** el citoplasma de los hepatocitos aparece vacío con el núcleo desplazado a la periferia y con el área central ocupado por una gran vacuola de lípidos. Esta característica microscópica no representa ninguna variedad clínica distinta y lo más habitual es que constituya pequeñas áreas de gran número de tumores.

- **Otros depósitos:** ultraestructuralmente se han identificado muchos otros depósitos e inclusiones tales como lisosomas

gigantes, hiperplasia del retículo endoplásmico liso, cúmulos de glucógeno, grasa o fibrinógeno ⁽¹⁸⁶⁾, antígeno de superficie del virus de la hepatitis B, y todo tipo de productos degenerativos ⁽⁸⁹⁾.

Frecuentemente aparece material eosinofílico dentro del núcleo a modo de inclusión. Esta imagen se debe a una invaginación de la membrana nuclear y del citoplasma por fuera de ella que es cortada transversalmente durante la elaboración del material de biopsia.

Dentro de estos tumores puede existir calcificación de tipo distrófico y posterior osificación. Aunque es rara, puede ser extensa y descubrirse radiológicamente.

El grado de diferenciación celular depende de las siguientes variables:

- arquitectura histológica
- cohesión de las células
- cantidad y cualidad acidofílica del citoplasma
- tamaño e hipercromatismo del núcleo
- relación núcleo-plasmática
- funcionalidad celular (producción de bilis)

Según esto, podemos distinguir cuatro grados de diferenciación:

GRADO I:

Es difícil diferenciarlo del hígado no tumoral. Las células tumorales se asemejan a hepatocitos no tumorales, sin embargo la densidad nuclear es mayor, el citoplasma es menos eosinófilo, la célula suele ser de menor tamaño y la relación núcleo-

plasmática está discretamente aumentada. Habitualmente aparecen algunas formaciones microacinares así como focos de cambio graso.

El tumor se reconoce por la presencia de una formación nodular de densidad mayor que comprime las trabéculas vecinas, por invasión venosa, por la presencia de metástasis a distancia o, más comúnmente, por la presencia de áreas de un grado mayor de diferenciación.

Algunos autores denominan a los tumores de grado I puros, carcinoma hepatocelular "borderline" o adenomatoso.

GRADO II:

Está integrado por células mayores, de citoplasma granular y acidófilo, núcleo grande e hipercromático. Los acinos son frecuentes y a veces contienen bilis.

GRADO III:

Las células tienen un citoplasma escaso, granular y menos acidófilo; su núcleo es muy grande, muy hipercromático y ocupa la mayor parte de la célula. Son frecuentes las células gigantes, existe poca producción de bilis y el patrón trabecular está alterado. Es frecuente el crecimiento intravascular.

GRADO IV:

El citoplasma es escaso, puede no ser granular y tiende a la basofilia. El núcleo ocupa casi toda la célula. No suelen verse trabéculas o acinos, siendo habitual el crecimiento en sábana. La producción de bilis es muy rara.

Es frecuente que coexistan áreas de distinto grado histológico separadas por finos septos dentro del tumor, incluso los cuatro grados. Por este motivo, ante la existencia de dos nódulos tumorales, no podemos asegurar si son dos tumores primarios distintos o uno multicéntrico atendiendo sólo al distinto grado histológico.

Los hepatocarcinomas se originan como tumores relativamente bien diferenciados transformándose progresivamente en tumores menos diferenciados en estadios posteriores de su desarrollo.

Tipos celulares especiales:

CÉLULAS CLARAS:

Son células poligonales de citoplasma vacío (dato del microscopio óptico) debido a grandes cúmulos de glucógeno o/y de grasa. Es más frecuente ver grupos de estas células en los tumores, pero rara vez todo el tumor está compuesto por ellas.

CÉLULAS PLEOMÓRFICAS:

Existe mucha variación en cuanto al tamaño celular y nuclear, forma y apetencia tintorial. Son frecuentes las células multinucleadas y suelen incluirse en el grado IV de diferenciación. Los tipos celulares varían desde grandes células multinucleadas, células pequeñas completamente indiferenciadas, hasta células fusiformes.

Mediante técnicas de inmunohistoquímica se ha demostrado la existencia de células con diferenciación neuroendocrina tanto en los hepatocarcinomas como en los colangiocarcinomas. La variedad

en la que con más frecuencia se ha documentado esto es el hepatocarcinoma fibrolamelar. La patogénesis de esta diferenciación se relaciona con la hipótesis de la existencia de una célula madre pluripotencial de la cual derivarían estos tumores ⁽²¹⁴⁾.

El componente estromal de estos tumores suele ser escaso y se limita a hileras de tejido conjuntivo laxo situado entre las trabéculas o pseudoglandulas y los canales vasculares. Algunos tumores presentan una intensa reacción desmoplásica generalizada o localizada en algunas áreas, siendo el resto del tumor como antes se ha descrito.

E. CUADRO CLÍNICO

Los cánceres de hígado pueden pasar inadvertidos durante la vida porque a menudo surgen en pacientes cirróticos y su presentación puede sugerir que empeoró una función hepática ya deteriorada. Su curso clínico es silente y, en el momento del diagnóstico, las expectativas de supervivencia son ya escasas.

El síntoma más frecuente es el dolor abdominal acompañado de hepatomegalia e hipersensibilidad local. Otros datos que pueden aparecer son la palpación de una masa hepática, el soplo a nivel del hígado, el hemoperitoneo por rotura del tumor (ocurre hasta en el 20% de los casos y es más frecuente en pacientes que toman anticonceptivos) ⁽⁸²⁾ o los síntomas típicos de la hepatopatía crónica aunque no existiere cirrosis. La ictericia es rara en este tipo de tumor primario. Hay que destacar que el 18% de los pacientes no presentan sintomatología en el momento del diagnóstico.

En Africa la presentación clínica suele ser más aguda, asemejando un absceso hepático ⁽⁴⁾. El cuadro clínico visto en Asia es intermedio entre el típico de Africa y el de Occidente, aunque más parecido al africano. ⁽¹⁰⁹⁾

Analíticamente destaca la elevación desproporcionada de la fosfatasa alcalina con bilirrubina normal y anemia. La conjunción de: disminución de los valores de hemoglobina, tiempo de protrombina y concentración de albúmina en el suero, así como aumento de la velocidad de sedimentación globular, número de cayados en la fórmula leucocitaria, de la colemia, de la transaminasa glutámico-pirúvica y de la fosfatasa alcalina, están presentes en el 80% de los casos. Se ha descrito la elevación de una isoenzima atípica de la fosfatasa alcalina en casi todos los casos ⁽²⁵⁾, de la alfa-l-fucosidasa y de un isoenzima de la gamma-glutamyltransferasa, datos estos por confirmar.

La alfa-fetoproteína sérica esta elevada en muchos pacientes. Hasta 1985 se consideraba diagnóstico un valor por encima de 500 ngr/ml; posteriormente, tras el desarrollo de una técnica de detección con anticuerpos monoclonales, se considera índice diagnóstico como marcador de hepatocarcinoma, con una sensibilidad del 52.6% y una especificidad del 99.6%, un valor por encima de 200 ngr/ml ^(193,194). Hasta el 80% de los pacientes con carcinoma hepatocelular tiene valores diagnósticos, mientras que el 90% de los hepatoblastomas, el 28% de los hepatocolangiocarcinomas y el 5% de los colangiocarcinomas lo presentan ⁽²⁰¹⁾. Estos valores dependen más del grado de diferenciación tumoral que del tamaño del mismo ⁽²¹⁷⁾.

Este enzima puede estar elevado (>20 ngr/ml) en pacientes con cirrosis, metástasis hepáticas, hepatitis viral aguda y crónica, hemocromatosis, tirosinemia, pero rara vez por encima de los 200 ngr/dl. Este hecho se asocia a la severidad de la destrucción de parénquima hepático como refleja el aumento de la cifras de transaminasas ⁽¹⁸¹⁾. En el embarazo se pueden superar estas cifras. Su valor se establece en cuanto a que puede ser utilizado como predictivo de morir por una enfermedad hepática ⁽⁴⁵⁾, menor supervivencia media ⁽²⁰⁵⁾ y desarrollar esta neoplasia. Así, el riesgo relativo de desarrollar un hepatocarcinoma en pacientes con hepatopatía crónica y valores persistentemente elevados de alfafetoproteína es 14 veces mayor que el de pacientes con valores normales y de 6 veces entre los pacientes con niveles fluctuantes ^(31,112,65,79).

Existen casos de elevación familiar de los niveles de alfafetoproteína de forma crónica sin que exista patología alguna asociada ^(58,72).

Recientemente se han descrito técnicas que combinan la cromatografía y la electroforesis para detectar diferentes fracciones de la alfafetoproteína (L3 y P4+P5) según sea su componente oligosacárido. Así, se detectan elevaciones de estas fracciones (>30 ngr/ml) en los pacientes con hepatocarcinomas con una sensibilidad del 73% y una especificidad de hasta el 96% ^(194,8,223). Además, estos marcadores se elevan entre 3 y 18 meses antes de que el tumor pueda ser detectado por técnicas de imagen ⁽¹⁹¹⁾. Todo ello permite afirmar que un paciente cirrótico con una elevación de la alfafetoproteína L3 o alfafetoproteína p4+p5, o tiene un hepatocarcinoma, o lo tendrá clínicamente detectable en 12 a 18 meses, aunque la ausencia de la elevación de estos

marcadores no excluye el diagnóstico de carcinoma hepatocelular.

El CEA sérico se halla elevado en el 63% de los hepatocarcinomas por encima de los 5 ngr/ml ⁽¹⁰³⁾. Recientemente se ha dado cierto valor a la elevación de la proteína C reactiva sérica (por encima de 10 mg/l). En condiciones normales es sintetizada por los hepatocitos y secretada en respuesta a situaciones agudas. Se ha demostrado su síntesis en hepatocitos tumorales inducida por los monocitos.

El 78% de los pacientes con hepatocarcinomas presentan niveles elevados de PCR, mientras que menos del 10% de los portadores de otras hepatopatías tales como cirrosis, hepatitis B crónica o portadores asintomáticos de virus B, lo tienen. Sin embargo, en situaciones agudas que compliquen estas hepatopatías, se elevan notablemente las cifras de PCR disminuyendo la especificidad de la prueba. A pesar de ello, se estima que los niveles de PCR son más específicos en el diagnóstico de los hepatocarcinomas que los de alfa-fetoproteína y tienen menos falsos positivos. Una elevación de ambas se encuentra presente en el 94% de los pacientes con hepatocarcinoma pero no se ha demostrado ninguna relación entre ambas ⁽¹¹¹⁾.

Síndromes paraneoplásicos: se han descrito gran variedad de manifestaciones endocrinas y hematológicas relacionadas con estos tumores. Hipoglucemia, hipercalcemia (se ha descrito la producción de hormona PTH-like, prostaglandina E y vitamina D-like por hepatocarcinomas), cambios sexuales (secundarios a la producción de hormona HCG-like), eritrocitosis (por síntesis de una sustancia semejante a la eritropoyetina), hipercolesterolemia, producción ectópica de calcitonina, síndrome carcinoide, porfiria

cutánea tarda, polineuropatía, osteoartropatía pulmonar hipertrófica y disfibrinogenemia.

La presencia de receptores de estrógenos en el citosol de los hepatocitos tumorales ha sido demostrada recientemente pero ello no tiene ningún significado clínico, analítico, histopatológico, pronóstico ni terapéutico. No se conoce si tiene alguna importancia etiológica ni por qué unos tumores son receptor-positivo (algo más de la mitad) y otros receptor-negativo ⁽¹³⁷⁾.

F. PRONOSTICO

La mayoría de los pacientes con cánceres hepáticos primarios mueren por insuficiencia hepática o hemorragia gastrointestinal por varices esofágicas a los pocos meses del diagnóstico. Sólo la resección quirúrgica de pequeños tumores brinda la posibilidad de una supervivencia mayor.

Los factores pronósticos más favorables son:

- **la edad:** por debajo de los 45 años la media de supervivencia es mayor que en edades más avanzadas ⁽⁴⁰⁾.
- **la ausencia de cirrosis:** en series japonesas, el 50% de los pacientes sometidos a una resección hepática por hepatocarcinoma y sin cirrosis, tienen una media de supervivencia cinco veces mayor que los que tienen cirrosis.
- **el tamaño:** los carcinomas hepatocelulares mayores de 5cm tienen mucho peor pronóstico ⁽¹³⁰⁾.

- la resección quirúrgica completa.
- variantes de hepatocarcinoma: las variantes, diminuto, encapsulado y pedunculado tienen mejor pronóstico que el resto.

En los últimos años se han notificado remisiones espontaneas de hepatocarcinomas sin que se conozca su causa, ni los factores que puedan preverla ^(66,9,176).

G. VARIANTES DE LOS CARCINOMAS HEPATOCELULARES

1. HEPATOCARCINOMA DIMINUTO

En la última década se ha hecho evidente la existencia de una nueva forma de hepatocarcinoma con características clínicas y patológicas diferentes del resto.

Por razones desconocidas, esta variedad se confina casi exclusivamente al sudeste asiático, y más particularmente, a Japón, donde representa el 10% de los cánceres de hígado ⁽¹⁴³⁾.

Se caracteriza por la presencia de un tumor único, de pequeño tamaño (generalmente de 3 a 5 cm), de crecimiento lento, rodeado por una cápsula fibrosa gruesa y sin invasión vascular. Histológicamente es bien diferenciado, trabecular y la mayoría aparecen sobre hígados cirróticos. Raramente se asocia a la presencia del AgHBs en sangre y sólo la mitad producen alfa-fetoproteína. Tienen una alta tasa de curación tras la hepatectomía. El factor pronóstico más importante es la invasión de la cápsula ⁽⁸⁴⁾.

2. HEPATOCARCINOMA DE CELULAS CLARAS

También denominado hepatocarcinoma de células grasas, se define así al carcinoma hepatocelular con más del 50% de sus células con citoplasma vacío debido al depósito de glucógeno o de grasa. No todas los autores sitúan en esta cifra el límite, sino que algunos consideran como tumor de células claras a aquel que presenta algunas áreas con este tipo de células.

Su incidencia varía mucho según las áreas; así en Hong-kong representan el 12.5% de los hepatocarcinomas (más del 50%) ⁽²¹⁹⁾, mientras que en Nueva York el 8.7% de los tumores tienen áreas de células claras ⁽⁶¹⁾. Es más frecuente en hígados no cirróticos que en los cirróticos.

Macroscópicamente aparece como una masa única aunque a veces presenta nódulos satélites y al corte es amarillento. Microscópicamente aparece como un hepatocarcinoma típico con áreas de células claras y células eosinofílicas en transición de un tipo a otro. El citoplasma de estas células se encuentra ocupado por grasa y glucógeno, con menos organelas que los hepatocitos tumorales típicos y el núcleo desplazado.

Clínicamente no presenta ninguna característica distintiva y su pronóstico es mejor, según las series de Hong-Kong (no ratificado por otras series).

3. HEPATOCARCINOMA DE CÉLULAS FUSIFORMES

También llamado hepatocarcinoma sarcomatoide, representa el 3-5% de los carcinomas hepatocelulares y puede ser sólo una pequeña área dentro del tumor o todo él. Tiene predominancia por los varones en una proporción 6:1 con una media de edad de 58 años. La cirrosis se ha descrito en el 64% de los pacientes.

Clínicamente no presenta ningún dato específico y analíticamente destaca la positividad del CEA en casi todos los casos con la alfa-fetoproteína normal.

Macroscópicamente destaca la elevada incidencia de la forma pedunculada ⁽⁹⁴⁾.

Microscópicamente aparece como fascículos entretejidos de células fusiformes con pequeño núcleo, escaso citoplasma de límites mal definidos y escasas mitosis. Hay algunos canales vasculares dispersos elongados entre estas bandas tumorales.

Las metástasis son más frecuentes que en el hepatocarcinoma típico y éstas pueden ser de carcinoma hepatocelular típico o de aspecto sarcomatoide.

4. CARCINOSARCOMA

Este término debe reservarse para aquellos casos en que coexisten en el hígado un tumor epitelial primario maligno (generalmente un hepatocarcinoma) y un sarcoma no de células fusiformes, como un osteosarcoma, angiosarcoma, rabdomiosarcoma

⁽¹⁰⁷⁾. Estos pueden aparecer como dos tumores separados o como un carcinoma con diferenciación sarcomatosa ^(94,139), que es lo más frecuente y se ha descrito hasta en un 3.9% de los carcinomas hepáticos, con mucha mayor incidencia en los hepatocarcinomas que en los colangiocarcinomas. La patogénesis de esta transformación sarcomatosa no se conoce aunque se ha demostrado la presencia de vimentina y citoqueratina nº 8 en las células de las áreas sarcomatosas lo que demuestra su origen epitelial hepático ⁽⁷⁴⁾.

5. HEPATOCARCINOMA FIBROLAMELAR

También llamado carcinoma hepatocelular eosinofílico con fibrosis lamelar, carcinoma hepatocelular de células poligonales con estroma fibroso, hepatoma fibrolamelar oncocítico. Es un tumor hepatocelular de crecimiento lento, expansivo, que surge sobre un hígado por lo demás normal, caracterizado por la presencia de hepatocitos eosinofílicos neoplásicos dispuestos en cordones separados por estroma fibroso en forma de laminillas.

Se definió como tal en 1976 ⁽¹⁶²⁾, aunque ya había sido descrito por Edmondson en 1956, y su incidencia varía con la edad de la población y la naturaleza del estudio desde un 1% hasta un 56%, en una serie de pacientes menores de 40 años. Es, por tanto, un tumor que tiene preferencia por los jóvenes, sin predominio de sexo (ligeramente superior en mujeres: 56%) ^(121,173).

Clínicamente permanece silente durante mucho tiempo siendo el dolor abdominal de meses de evolución el síntoma más frecuente, junto al síndrome constitucional y la sensación de plenitud. Los estudios de laboratorio revelan niveles generalmente normales de alfa-fetoproteína en sangre, ocasionalmente la alfa-1-antitripsina es aberrante (fenotipo MZ); los niveles de proteína ligadora

de la vitamina B12 aparecen frecuentemente elevados así como los de neurotensina.

Es característica la calcificación del tumor en la radiografía simple ^(200,17).

Se ha discutido mucho la relación de agentes ambientales y fármacos con la etiopatogenia del tumor pero, actualmente, no se conoce ningún agente ni factor claramente relacionado con este tumor. Los factores etiológicos demostrados en los demás hepatocarcinomas (tales como virus B de la hepatitis, cirrosis, Thorotrast), no lo son del hepatocarcinoma fibrolamelar y este tumor es raro en las áreas de alta incidencia de aquél. A pesar de su semejanza con la hiperplasia nodular focal, esta entidad no está relacionada con este tumor ⁽⁵⁰⁾.

Patología:

- Macroscópica: el hepatocarcinoma fibrolamelar aparece en el 75% de los casos sobre un hígado normal y, curiosamente es más frecuente en el lóbulo izquierdo (de la mitad a la cuarta parte de los casos) ⁽³⁵⁾. La hepatopatía crónica lo acompaña en el 20% de los casos (cirrosis la mitad de ellos y fibrosis el resto). Suele presentarse como un nódulo grande, marrón, bien delimitado del resto del hígado, a veces con algunos nódulos satélites y ocasionalmente con la cicatriz central característica de la hiperplasia nodular focal. Hasta en un tercio de los casos aparece un patrón semejante a la peliosis hepática con sinusoides muy dilatados, limitado a algún área dentro del tumor.

- Microscópica: los hepatocitos tumorales son células poligonales eosinofílicas, bien diferenciadas, con citoplasma granular (oncocítico), núcleo vesicular y nucléolo prominente,

dispuestas en trabéculas delgadas separadas por laminas de estroma. La presencia de acinos es rara, sin embargo son frecuentes los trombos biliares. En su citoplasma aparecen cuerpos pálidos, hasta en el 50% de los casos, de diferente tamaño (son áreas sin citoplasma), cuerpos densos (hialinos) adyacentes a los pálidos (son cúmulos de material fibrilar heterogéneo electro-denso), hasta en un tercio de los casos, que se tiñen con el PAS pero no con la alfa-1-antitripsina ni con la alfa-fetoproteína. Por fuera del citoplasma se sitúan pequeñas gotas como de mucina que dan positividad para la albúmina y para la alfa-1-antitripsina. Es característica la presencia de la proteína ligadora de cobre y de cobre en el citoplasma de los hepatocitos más próximos a las láminas fibrosas del estroma. Casi todos los tumores son positivos para el fibrinógeno, alfa-1-antitripsina y proteína C reactiva de manera difusa en el citoplasma o como glóbulos intracitoplasmáticos ⁽¹²⁾.

El patrón granular de estas células se debe a la abundancia de mitocondrias, las cuales están moderadamente hinchadas y con escasas crestas; algunas de ellas poseen pequeños gránulos densos en su interior. Este detalle también aparece en los hepatocitos no tumorales de estos pacientes y en algunos casos de hepatopatía crónica y cirrosis, por lo que algunos autores sugieren la posibilidad de que su génesis pudiera estar relacionada con la hipoxia local producida por la fibrosis.

El estroma está formado por delgadas láminas de colágeno que en tumores grandes pueden formar extensas áreas de fibrosis.

Es rara la invasión de la porta y de los conductos biliares.

Se ha sugerido que el aspecto característico de este tumor se debe a la presencia de fibrinógeno dentro del citoplasma.

Pronóstico:

Este tumor tiene mejor pronóstico que el hepatocarcinoma típico, situándose la media de supervivencia en 32 meses (82% a los dos años, 63% a los cinco) y unas altas cifras de operabilidad (48%).

6. HEPATOCARCINOMA DE CELULAS GIGANTES

Bajo este encabezamiento se agrupan los tumores primitivos del hígado constituídos por células gigantes (multinucleadas o pleomórficas) en más del 50%.

Las células gigantes multinucleadas son frecuentes en los hepatocarcinomas típicos de grado III y IV y ocasionalmente pueden comprender una parte extensa del tumor. En estos tumores, las células multinucleadas pueden tener aspecto benigno, con abundante citoplasma y muchos núcleos pequeños (tipo osteoclastoma), o ser bizarras, con grandes núcleos pleomórficos que contienen múltiples nucléolos, con escaso citoplasma (tipo pleomórfico). En este último tipo, las células no son tan grandes como las del tipo osteoclastico, presentan mayor variación en su forma y tamaño y a menudo son fagocíticas.

El origen de estos tumores es discutido. Algunos autores apuntan hacia las células de Kupffer ⁽¹³⁶⁾, mientras que otros están a favor del origen hepatocelular ⁽⁵⁰⁾.

7. HEPATOCARCINOMA ESCLEROSANTE

También conocido como hepatocarcinoma fibrosante, colangiocarcinoma con hipercalcemia, es aquel hepatocarcinoma asociado a intensa fibrosis y un componente epitelial semejante a conductos biliares pero con citoplasma eosinófilo.

Representa el 3% de los tumores primarios de hígado, no tiene preferencia por ningún sexo y la edad media de aparición son los 60 años.

Los síntomas que produce son semejantes a los de los hepatocarcinomas típicos siendo el signo más destacado la elevada incidencia de hipercalcemia (hasta el 70% de los casos), con una media de calcemia de 12.1 mgr/dl ⁽⁵⁰⁾. El mecanismo de este signo parece ser la producción por los hepatocitos tumorales de una hormona de acción semejante a la paratohormona (PTH).

Macroscópicamente se presenta como una tumoración dura, grisácea, bien delimitada y de contornos dentados.

Microscópicamente destaca la presencia de intensa fibrosis con pequeños cúmulos de células ductuloides. Este tipo celular tiene características muy variables que van desde la apariencia hepatocelular típica (citoplasma eosinófilo, núcleo y nucléolo evidente), hasta el aspecto de colangiocarcinoma (escaso citoplasma y no nucléolo). Las primeras suelen predominar en la periferia del tumor, mientras que las segundas lo hacen en el centro. Se ha descrito la presencia de gránulos de secreción en estas células.

6. TUMOR COMBINADO: HEPATO-COLANGIOCARCINOMA

Los carcinomas primarios de hígado se clasifican histológicamente en dos grandes grupos como hepatocarcinomas y como colangiocarcinomas intrahepáticos. Cada vez es mayor la evidencia de que estos dos tipos de tumores hepáticos difieren en su etiología, epidemiología y características clínicas. Por consiguiente la diferencia entre ambos es cada vez mayor. No obstante, se han descrito tumores primarios de hígado con evidencia histológica de ambas líneas celulares, hepática y ductal.

Tales tumores han sido considerados de una manera superficial en la literatura y a menudo confundidos con hepatocarcinomas con patrón pseudoglandular, de ahí que se pensase que los tumores combinados eran relativamente frecuentes. Por el contrario, estudios detallados han demostrado que los tumores combinados representan el 5% de los tumores primarios de hígado (50).

De acuerdo con los criterios de la OMS, se consideran tumores combinados de hígado a aquellos que presentan evidencia clara de ambos tipos de diferenciación, hepatocelular y colangiocelular.

El componente hepatocelular se considera presente si se demuestra producción de bilis, canalículos biliares intercelulares o un patrón trabecular en algún campo del tumor. Se identifica componente colangiocelular cuando se demuestra producción de mucina o formaciones glandulares de células semejantes a las de los conductos biliares. Los tumores poco diferenciados en los que es imposible distinguir estos componentes quedan excluidos de

este grupo.

Se diferencian de los hepatocarcinomas con transformación ductal en que en aquellos no existen dos áreas diferenciadas de colangiocarcinoma y de hepatocarcinoma, sino que todo o parte del tumor presenta formaciones ductales de células cuboidales en transición entre los hepatocitos y las células ductales típicas.

Posteriormente otros autores incluyeron estos tumores dentro de los hepatocarcinomas como variedad de los mismos e incluso sugirieron que fueran eliminados de la clasificación de tumores primarios de hígado ⁽⁷⁾. Actualmente la clasificación de la OMS los contempla como otro tipo de tumor primario.

La existencia de estos tumores podría reflejar un origen embriológico común de los hepatocitos y las células de los conductos biliares a partir de una célula madre que se activaría y diferenciaría de un modo aberrante. Algunos autores han situado esta célula como derivada de las células de los conductos transicionales ⁽¹⁸⁴⁾, sin embargo esto permanece aun en discusión.

Epidemiológicamente no todos los tumores histológicamente combinados se comportan del mismo modo, ni sus características son mezcla del hepatocarcinoma y del colangiocarcinoma. Los tipos I y II de Goodman (véase más adelante) se parecen más al hepatocarcinoma y así aparecen con más frecuencia en varones, en la 5ª o 6ª décadas de la vida y cirróticos. Sin embargo los tipo III aparecen en varones de la tercera década, con un hígado previamente sano y su supervivencia es mayor que en el otro grupo ⁽⁶⁹⁾.

Patología:

Alen and Lisa describieron tres tipos macroscópicos de tumores combinados:

- a) masas separadas compuestas por hepatocarcinoma o colangiocarcinoma.
- b) masas contiguas pero independientes de hepatocarcinoma y colangiocarcinoma.
- c) masa con elementos hepatocelulares y colangiocelulares mezclados.

La mayoría de los tumores infiltran el parénquima vecino y no están encapsulados; son firmes al corte, de coloración amarillo-grisácea con áreas de necrosis, hemorragia o bilis.

Microscópicamente, Goodman distingue tres tipos:

- tipo I (tumores coincidentes): están presentes áreas de hepatocarcinoma y áreas de colangiocarcinoma, de moderadamente a bien diferenciadas, separadas y aparentemente coincidentes.

- tipo II (tumores transicionales): coexisten áreas de hepatocarcinoma y áreas de colangiocarcinoma moderadamente a mal diferenciadas con áreas con características de ambos patrones. Las características citoplásmicas en estas áreas van desde hepatocelulares típicas a una mezcla de células con diferenciación hepato y colangiocelular.

- tipo III (tumores fibrolamelares): presentan características de los hepatocarcinomas fibrolamelares con áreas de diferenciación hepatocelular y colangiocelular mezcladas sin áreas separadas de uno u otro patrón histológico.

Mediante técnicas inmunohistoquímicas Goodman demostró que la queratina inmunoreactiva era un buen marcador para las células con diferenciación ductal, mientras que la alfa-fetoproteína era un buen marcador para las células con diferenciación hepatocelular.

En ambos tipos celulares se identifican: alfa-1-antitripsina, fibrinógeno, IgG, CEA y albúmina y lo que no permite su distinción.

7. HEPATOBLASTOMA

A. GENERALIDADES

Sinónimos: tumor hepático mixto de la infancia, hepatoblastoma maligno, hepatoblastoma epitelial y mesenquimal, tumor embrionario mixto del hígado.

Aunque la denominación "tumor mixto" o compuesto denota un tumor derivado de más de una capa germinativa, no todos pueden ser considerados como hepatoblastomas; así, el teratoma hepático o el carcinosarcoma son tumores compuestos del hígado, pero no son hepatoblastomas.

Es un tumor hepático primario que generalmente aparece en los tres primeros años de la vida, formado por hepatocitos embrionarios o fetales y un componente mesenquimal. Al igual que otros tumores característicos de esta edad, el hepatoblastoma manifiesta un amplio espectro de estadios de maduración en su componente epitelial, así como de la capacidad de expresar

diferenciación heteróloga, por ejemplo hueso, cartílago, epitelio escamoso o neural.

B. EPIDEMIOLOGIA

Es raro por encima de los cinco años y excepcional en la segunda década. Hay descritos menos de veinte casos en el adulto, denominándose hepatoblastoma del adulto o tumor mixto maligno hepático. Histológicamente no existen diferencias con el hepatoblastoma de la infancia.

Es el tumor hepático más frecuente en la infancia y representa de 0.2 al 5.8% de todos los tumores malignos. No existen diferencias significativas en cuanto a su incidencia entre distintas áreas del mundo. Es más frecuente en varones con una relación hombre-mujer de 2:1.

C. ETIOPATOGENIA

No se conoce ningún factor claramente relacionado con el desarrollo de esta enfermedad. Ni la infección por virus B, ni las alteraciones metabólicas o congénitas descritas para el hepatocarcinoma parecen ser factores etiológicos en el hepatoblastoma. Hasta en la mitad de los casos se asocia a malformaciones congénitas, entre las que destacan macroglosia, defecto del diafragma derecho, divertículo de Meckel, poliposis cólica y otras malformaciones renales y cardíacas. Se ha descrito cierta asociación con el síndrome alcohólico fetal, la ingesta de anticonceptivos y el tratamiento para la esterilidad ^(102,132,155).

El origen del componente mesenquimal ha sido controvertido y se llegó a postular que estos tumores eran mixtos, derivados de células mesenquimales y epiteliales, pero hoy se acepta que son tumores epiteliales malignos y el componente mesenquimal es un elemento metaplásico. Estudios ultraestructurales e inmunohistoquímicos recientes indican que este componente aparece a través de un proceso de metaplasia epitelial ^(120,2,171).

D. CLINICA

Este tumor suele manifestarse clínicamente a los dos años como media, con hepatomegalia, distensión abdominal y ocasionalmente dolor intenso secundario a la rotura del mismo. No suele cursar con ictericia. Produce importantes trastornos metabólicos como intensa osteopenia y fracturas patológicas, hipoglucemia, precocidad sexual, hemihipertrofia del lado izquierdo. Analíticamente destaca la intensa trombocitosis, elevación de la beta-HG y en el 80-90% de los casos de la alfa-fetoproteína sérica. Ocasionalmente existe cistationinuria.

E. PATOLOGIA

Macroscópicamente se presenta como una masa grisácea única pero multilobulada, de diez a doce centímetros de tamaño medio, sin otra hepatopatía acompañante y preferentemente en el lóbulo derecho (60%) ^(35,50). Al corte existen áreas de necrosis y hemorragia junto a zonas más densas que corresponden a las áreas epiteliales puras.

Microscópicamente los hepatoblastomas están compuestos por hepatocitos en diversos grados de maduración y de un componente

mesenquimal semejante al osteoide.

- COMPONENTE EPITELIAL:

El componente epitelial siempre está presente y generalmente es mayoritario. Está representado por células que asemejan a hepatocitos fetales, embrionarios, mezcla de ambos o pequeñas células anaplásicas. Según esto, se dividen en:

* tipo fetal: son células moderadamente diferenciadas, mayores que el otro tipo celular pero menores que los hepatocitos no tumorales, con la relación núcleo-plasmática normal o ligeramente aumentada (de 1/1 a 2/1), citoplasma eosinófilo, granular o claro, nucléolo evidente, pocas mitosis y distribución variable, aunque suelen disponerse en cordones de pocas células de grosor rodeadas por canales vasculares capilarizados ricos en colágeno tipo IV y laminina. Contienen abundantes vacuolas de lípidos, mitocondrias y retículo endoplásmico rugoso. En la pared de los canales vasculares se ha demostrado la presencia de células de Kupfer mediante técnicas inmunohistoquímicas ^(170,172).

Es frecuente la hematopoyesis extramedular.

* tipo embrionario: son células pequeñas, fusiformes, con núcleo grande e hipercromático, relación núcleo-plasmática aumentada, citoplasma basófilo, escaso, con poca cantidad de organelas, formando trabéculas o sábanas de alta densidad celular. Existen áreas de diferenciación ductal y metaplasia escamosa.

Se ha identificado alfa-fetoproteína, gonadotropina coriónica humana, alfa-1-antitripsina, cistationina colágeno tipo III y IV, laminina y fibronectina en el citoplasma de estas

células. Los distintos tipos epiteliales exhiben mayor expresión intracelular de las proteínas de la matriz extracelular a medida que disminuye su grado de diferenciación desde el tipo fetal a el anaplásico, pasando por el embrionario. Además, existen células de transición entre un tipo y otro.

- COMPONENTE MESENQUIMAL:

Se caracteriza por la presencia de bandas anchas de material homogéneo y birrefringente compuesto por fibrillas colágenas que contiene células epiteliales de citoplasma abundante y eosinófilo, núcleo grande, redondeado y excéntrico.

Estas células se disponen en cordones y nidos que se mezclan con los hepatocitos adyacentes. Ocasionalmente, existe hueso, cartílago o tejido mesenquimal primitivo. Se han descrito casos con múltiples diferenciaciones tisulares, sugiriendo el autor el término de hepatoblastoma teratoide ^(3,122).

Según el componente y tipo celular predominante, estos tumores se subdividen en cuatro subtipos: fetal, embrionario, mixto (epitelial y mesenquimal) y anaplásico.

El subtipo anaplásico se considera aparte debido a su peor pronóstico. Es un tumor mal delimitado, de crecimiento difuso que infiltra el tejido vecino, con poca vascularización, compuesto por células de citoplasma escaso y mal definido con intensa expresión intracelular de proteínas de la matriz extracelular (colágeno tipos III y IV, laminina y fibronectina), poco diferenciadas, núcleo redondeado y elevado índice mitótico (Ruck). Pueden coexistir áreas de estas células con los otros tipos celulares y siempre presentan invasión vascular. Abenzoa

y cols. postulan que el tipo anaplásico ocupa una posición intermedia entre el componente epitelial y los elementos mesenquimales ⁽²⁾.

F. PRONOSTICO

El pronóstico de estos tumores es malo, con una mortalidad del 76% y una media de supervivencia de 8 meses sin tratamiento. Sin embargo en el 60% de los casos es posible la resección hepática con una supervivencia larga. El mejor pronóstico lo tiene la forma fetal pura y el peor el anaplásico.

8. COLANGIOCARCINOMA

A. GENERALIDADES

También denominado carcinoma de células ductales, carcinoma del hígado, carcinoma colangiocelular o carcinoma ductal, es un tumor hepático primario, maligno, que tiene su origen en las células de los conductos biliares. Según el sitio de origen, se clasifica en:

- colangiocarcinoma extrahepático; se origina en los conductos biliares extrahepáticos.

- colangiocarcinoma intrahepático; tiene su origen en la vía biliar intrahepática. A su vez, este grupo se divide, según su localización en:

- # colangiocarcinoma periférico: se origina en la ramas de los conductos hepáticos principales cerca del área portal. #

colangiocarcinoma de los conductos hepáticos principales: aparece próximo al hilio hepático y sobre un conducto biliar principal.

colangiocarcinoma hiliar (tumor de Klatskin): se sitúa en el hilio hepático y puede extenderse por los conductos hepáticos derecho o izquierdo.

colangiocarcinoma papilar intraductal: presenta crecimiento intraductal y rara vez aparece con infiltración del tejido vecino.

B. EPIDEMIOLOGIA

Es mucho menos frecuente que el hepatocarcinoma. Representa el 10% de todos los tumores hepáticos primarios y frente al hepatocarcinoma varía del 5 al 30% de ellos. El tipo periférico es el más frecuente, seguido por el hiliar, y por el papilar intraductal.

En los países del Lejano Oriente tiene una incidencia mucho mayor que en Europa ⁽¹⁵²⁾ pero su distribución mundial no se conoce bien por la disparidad en los criterios de clasificación y diagnóstico de las distintas series.

La media de edad de presentación varía entre la quinta y sexta décadas, siendo raro por debajo de los cuarenta años. No existe diferencia en la incidencia por sexos.

C. ETIOPATOGENIA

Aunque en la mayoría de los casos no existe un factor causal definido, en el 20% de los colangiocarcinomas se ha descrito la existencia de factores predisponentes ⁽⁵⁰⁾.

Estos factores se pueden clasificar en varios grupos: anomalías que cursan con quistes ductales; incluyen, complejos de von Meyenburg, fibrosis hepática congénita, quistes hepáticos, enfermedad de Caroli, quistes de colédoco.

En estos casos el tumor aparece junto a la lesión quística y no dentro de ella a modo de cistoadenocarcinoma. Los asociados a los quistes coledocianos aparecen, sólo en un tercio de los casos, dentro del hígado y el resto son extrahepáticos.

- **colangitis crónica proliferativa o colangitis esclerosante secundaria:** es una complicación a largo plazo de litiasis biliar intra o extrahepática, traumatismo biliar o estenosis de la vía biliar de cualquier origen. Se postula que es secundaria a la proliferación glandular atípica ⁽¹⁴²⁾.

- **colangitis esclerosante primaria:** aparece en el curso de una colitis ulcerosa de larga evolución (de 0 a 30 años con una media de 5), más raro en la enfermedad de Crohn o asociado a síndromes de fibroesclerosis. Se ha sugerido que la inflamación crónica y la regeneración glandular serían los precursores del carcinoma ⁽¹³⁴⁾.

- **infestación por parásitos:** se ha descrito asociado a infestación por *Clonorchis sinensis* y *Opisthorchis viverrini*. Su mecanismo de acción se desconoce. Es una causa importante de carcinogenesis hepática en los países del Sudeste asiático. Otros parásitos que a menudo se localizan en el hígado, como *Schistosoma mansoni* y *japonicum* o *Fasciola hepática*, no parecen inducir esta neoplasia.

- **fármacos:** se ha descrito la relación entre estos tumores y diversos compuestos químicos, como los esteroides anabolizantes, metildopa ⁽²⁰⁾, Thorotrast, etc.

No existe asociación con infección por virus de la hepatitis B, ni con cirrosis.

D. CLINICA

Los signos y síntomas varían con el lugar de aparición del tumor.

El colangiocarcinoma periférico rara vez produce clínica alguna hasta que la enfermedad está avanzada y debuta con hepatomegalia, dolor abdominal vago, o masa hepática palpable.

Los de localización hiliar y intraductal, producen precozmente ictericia intensa. Los que crecen en los conductos hepáticos principales son asintomáticos hasta que obstruyen la vía biliar y provocan ictericia.

Los estudios de laboratorio revelan elevación de la bilirrubina sérica y de los enzimas de colostasis. Ocasionalmente la alfa-fetoproteína sérica está elevada, mientras que en el 75% de los casos, el CEA se encuentra por encima de sus valores normales ⁽⁹⁶⁾. La serología del virus de la hepatitis B es negativa.

Los síndromes paraneoplásicos son muy raros.

D. PATOLOGIA

Colangiocarcinoma periférico: Macroscópicamente, el colangiocarcinoma se presenta bajo tres patrones posibles:

- **forma masiva o solitaria:** aparece como una masa única, grande sobre un hígado sin aparentemente otras alteraciones.
- **forma multinodular:** aparecen múltiples nódulos tumorales blanquecinos, confluentes de diferente tamaño.
- **forma difusa:** existen multitud de nódulos tumorales pequeños repartidos por todo el hígado que representan la infiltración de una parte extensa del hígado por el carcinoma.

Es rara la existencia de cirrosis, aunque sí pueden aparecer quistes hepáticos y lesiones fibrosas acompañando o precediendo al tumor.

Al corte, el tumor es duro, blanco-grisáceo, semejando una cicatriz con el área central más blanda. No siempre se delimita bien del tejido vecino pero no existe hiperemia alrededor, como en las metástasis hepáticas de otros tumores.

Rara vez están teñidos de bilis excepto ocasionalmente, por difusión del pigmento a partir del tejido hepático circundante.

Microscópicamente, el colangiocarcinoma es un adenocarcinoma con estructuras glandulares de diferente longitud, delgadas y abundante esclerosis.

Las glándulas presentan un epitelio cuboidal de células pequeñas, citoplasma escaso y eosinófilo, núcleo redondeado y sin nucléolo evidente. Tienen pocas organelas pero abundantes

tonofilamentos. Su luz es pequeña y está llena de mucina en prácticamente todos los casos. El grado de diferenciación varía desde unas glándulas bien formadas hasta la existencia de cordones sólidos con escasas luces en su interior.

Alrededor de las formaciones glandulares existe intensa fibrosis y ocasionalmente infiltrado inflamatorio agudo y crónico. Puede existir depósito de calcio o diferenciación escamosa de las células cancerosas. Los colangiocarcinomas con diferenciación escamosa suelen ser mayores, más agresivos localmente y a distancia, y tienen peor pronóstico que los demás colangiocarcinomas ⁽¹³⁸⁾.

El colangiocarcinoma hiliar se presenta como una tumoración dura, fibrosa localizada en el hilio hepático, que puede infiltrar el parénquima hepático adyacente en mayor o menor medida según el estadio de la enfermedad. Klatskin distinguió tres patrones macroscópicos: ⁽¹⁰⁵⁾

- * el más frecuente es un nódulo pequeño y duro que obstruye la luz biliar pero que apenas infiltra el hígado.

- * el segundo tipo es una infiltración longitudinal de la vía biliar a nivel hiliar que produce un estenosis de la misma con escaso crecimiento extramural.

- * el tercer tipo es el menos frecuente y consiste en el crecimiento intraluminal del tumor en forma de masas papilares que dilatan notablemente la vía biliar con escasa invasión local.

El resto del hígado aparece verdoso y con una cirrosis biliar secundaria desarrollada.

Microscópicamente este tipo es semejante al descrito previamente.

El colangiocarcinoma de los conductos hepáticos principales aparece como una masa dura localizada en uno de los conductos hepáticos principales, con atrofia de la vía biliar proximal al tumor e hipertrofia del conducto hepático contrario. Cuando el tumor crece, infiltra el conducto hepático previamente respetado y produce un cuadro clínico llamativo, que suele ser cuando se diagnostica el proceso.

Histológicamente es semejante a los otros patrones.

El colangiocarcinoma papilar intraductal es una variedad rara de este tumor que se presenta como masas papilares intraductales, sesiles, únicas o múltiples, localizadas en la vía biliar intra y extrahepática y ocasionalmente en la vesícula biliar sin invasión del tejido hepático vecino. Histológicamente es semejante a las otras variedades pero con escasas atipias celulares y mitosis. Suele ir asociada a poliquistosis hepática o colitis ulcerosa ^(160,144).

E. PRONOSTICO

El único tratamiento curativo es la extirpación quirúrgica del tumor, pero ésta habitualmente no es posible debido al estadio avanzado de la enfermedad en el momento del diagnóstico.

La supervivencia de estos pacientes con tumores no resecados es menor que la de aquellos con hepatocarcinomas. En series japonesas, sólo el 3% de los enfermos sobreviven a los tres años. El pronóstico es semejante en los distintos tipos morfológicos

descritos. La muerte suele sobrevenir por insuficiencia hepática secundaria a la íctericia obstructiva, abscesos hepáticos y sepsis.

9. INMUNOHISTOQUIMICA DE LOS TUMORES HEPATICOS.

A. GENERALIDADES

Los marcadores celulares tumorales han demostrado su valor en el seguimiento y manejo de los pacientes oncológicos, sin embargo, su utilidad en el diagnóstico es limitada debido a que ninguno de los marcadores descritos hasta el momento es específico de tumor alguno. Además existe elevación de sus niveles en diversas situaciones, algunas de ellas no tumorales, y no todos los tumores los expresan. Factores como el grado de diferenciación celular, la progresión de la neoplasia, la diversidad celular del tumor, o la variación en la síntesis y secreción de las células neoplásicas, influyen en la producción de estos marcadores.

Los tumores hepáticos primarios expresan varios antígenos, de los cuales unos son oncofetales (alfa-feto-proteína, CEA), otros son productos de secreción (alfa-1-antitripsina, proteína C), otros son elementos estructurales (citoqueratinas) y otros están relacionados con la etiología del tumor (antígenos del virus B de la hepatitis).

La distribución de estos marcadores varía mucho de un tumor a otro y de una célula a otra de apariencia morfológica

semejante, dentro de una misma neoplasia. Es habitual que un tumor exprese dos o más antígenos simultáneamente incluso en las mismas células. Las combinaciones más frecuentes son las de AAT con AFP y de AAT con CEA. Sólo menos del 15% de los tumores no expresan ningún antígeno conocido hasta el momento ⁽²⁰²⁾.

Basados en estas técnicas se ha definido un fenotipo inmunohistoquímico orientativo en el diagnóstico de estos tumores. Así, es característico del hepatocarcinoma la combinación de positividad a la proteína C reactiva, alfa-fetoproteína, al CEA policlonal con el patrón canalicular y al factor XIIIa junto con la negatividad a la citoqueratina 19, a la vimentina, CA 19-9 y factor Lewis a. En el colangiocarcinoma destaca la asociación de positividad a la citoqueratina 8, 18 y 19, CEA intracitoplásmico con negatividad a la alfa-fetoproteína y al factor XIIIa. El patrón del tumor combinado es mezcla de los dos anteriores. El hepatoblastoma presenta positividad intensa a la AFP ⁽⁸⁵⁾.

Los marcadores tumorales tisulares descritos en este tipo de neoplasias, hasta el momento, son:

Antígeno carcinoembrionario (CEA)

Antígeno de superficie del virus B de la hepatitis (AgHBs)

Antígeno nuclear del virus B de la hepatitis (AgHBc)

Alfa-fetoproteína (AFP)

Alfa-1-antitripsina (AAT)

Citoqueratinas 7, 8, 18, 19

Gonadotropina coriónica humana (HCG)

Proteína C reactiva

Factor XIIIa

Antígenos de grupo sanguíneo ABH y Lewis

Vimentina

Ferritina

CA 19-9

Antígeno asociado a la eritropoyesis (EAA)

Fibrinógeno

Alfa-1-antiquimotripsina (AAQ)

Antígeno de membrana epitelial (EMA)

Proteína ligadora de ácidos grasos - hepática

B. ANTIGENO DE SUPERFICIE DEL VIRUS B DE LA HEPATITIS (AgHBs)

Desde el descubrimiento del antígeno de superficie del virus B de la hepatitis por Blumberg y colaboradores en 1965, se han conseguido mejoras importantes en la detección del mismo en sangre y en los tejidos. La gran mayoría de los casos de positividad tisular al AgHBs son pacientes con serología positiva a dicho antígeno. Las técnicas inmunohistoquímicas han confirmado que, a pesar de encontrar este antígeno en el parénquima hepático no tumoral, con frecuencia no se detecta en el tumor. El lugar más frecuente donde se localiza es el interior del citoplasma de los hepatocitos y lo hace bajo cuatro patrones:

- difuso: el antígeno se distribuye homogéneamente por todo el citoplasma.

- globular: el antígeno forma algunas inclusiones intracelulares grandes.

- marginal: se caracteriza por una banda de antígeno localizada inmediatamente por debajo de la membrana nuclear, principalmente en su lado sinusoidal, y en casi todas las células.

- moteado: existen multitud de pequeñas inclusiones celulares positivas para el antígeno.

El patrón más frecuente en los hepatocitos neoplásicos es el moteado, seguido del difuso y del globular. En las células no tumorales predomina el patrón marginal sobre el difuso y el globular ⁽⁸³⁾.

El antígeno AgHBs se ha detectado, no sólo en el citoplasma de los hepatocitos, sino que también, y de forma ocasional, en el núcleo de estas células ⁽⁵⁹⁾.

El número y distribución de las células positivas para el AgHBs varían desde una sola célula, hasta extensos grupos celulares, pero habitualmente se presentan como pequeñas áreas de células positivas en todo un corte. El patrón marginal, el moteado y el difuso, suelen aparecer en grupos, pero el globular suele presentarse como células sueltas y dispersas. En las áreas y casos con reacción inflamatoria y necrosis, la positividad suele ser más difusa y peor delimitada de la áreas negativas que en las zonas no necrosadas ⁽¹⁸⁷⁾.

Los resultados de esta técnica varían con el área geográfica donde se realice el estudio y con el tejido que se analice, según sea el parénquima hepático que rodea al tumor o el propio tejido neoplásico. Atendiendo a esto, esta prueba es positiva desde un 13.8% en tejido tumoral de series occidentales ⁽⁵⁹⁾ hasta un 15% en tejido neoplásico en series orientales. En tejido no tumoral las cifras van desde un 32% en Occidente hasta un 89% en Oriente ⁽⁸³⁾.

C. ANTIGENO NUCLEAR DEL VIRUS B DE LA HEPATITIS (AgHBc)

Los estudios inmunohistoquímicos demuestran la presencia del antígeno nuclear del virus B en tejidos carcinomatosos y en los no neoplásicos. Esta expresión esta relacionada con la seropositividad de los antígenos e y s de la hepatitis B. De hecho, para Suzuki et al. todos los casos de positividad para el antígeno core, lo son también para el de superficie.

La localización habitual del AgHBc es en el núcleo de los hepatocitos, tumorales o no, a modo de punteado granular fino. A veces se localiza en el citoplasma o/y en la membrana celular. Su presencia se ha demostrado en el 29.5% de los casos en el tejido no tumoral y en el 4.2% en el tumor, con patrones semejantes ⁽¹⁸⁷⁾.

D. ANTIGENO CARCINOEMBRIONARIO (CEA).

En 1965, Gold y Freedman demostraron la presencia de un antígeno en extractos de cáncer de colon, que también se presentaba en el intestino fetal normal durante el segundo y tercer trimestres. A este antígeno lo denominaron carcinoembrionario y lo caracterizaron como una glucoproteína con un peso molecular de 180.000. Posteriormente se ha demostrado que este antígeno se halla presente, no sólo en el cáncer de colon, sino también en otros carcinomas gastrointestinales, cáncer de pulmón, cáncer de mama, cánceres ginecológicos, mucosa colónica, intestinal y gástrica normales, epitelio bronquio-alveolar, glándulas salivales y la pared de los capilares. Se cree que el CEA procedente de tumores de diferentes órganos no difiere

significativamente de unos a otros.

Además, existen varias glicoproteínas normales y antígenos CEA-like presentes habitualmente en los tejidos y células del organismo que presentan reactividad cruzada con los anticuerpos anti-CEA utilizados para detectar éste, debido a que tienen epitopos semejantes. Los más importantes de éstos son el antígeno de reacción cruzada no específico (NCA), glicoproteína biliar I (BGP I), NCA 2 y antígenos del sistema ABO ⁽¹²³⁾.

En el hígado normal se localiza en los canalículos biliares, epitelio ductal y leucocitos. En el hígado cirrótico aparece además en los conductos biliares y en el polo secretor de los hepatocitos.

En los hepatocarcinomas se ha descrito positividad al CEA en el 15 a 30% de los casos localizándose en la membrana de los hepatocitos cerca de su polo biliar, particularmente en las áreas adenomatosas y quísticas de los tumores bien diferenciados trabeculares, alveolares o mixtos. No se ha descrito positividad intracitoplasmica ni con anticuerpos monoclonales, ni con anticuerpos policlonales. Recientemente se ha descrito un patrón canalicular inmunohistoquímico característico de los hepatocarcinomas. Consiste en el dibujo de una malla de delicados tubos que delimita por fuera la membrana plasmática de los hepatocitos tumorales, así como unas manchas redondeadas que representan los canalículos biliares teñidos cortados axialmente al observador. Este patrón tintorial canalicular aparece en el hígado no tumoral mejor definido y en el hepatocarcinoma más distorsionado. No ha sido observado en ninguna otra neoplasia ya sea hepática o no.

Tiene una sensibilidad, para el diagnóstico del hepatocarcinoma, del 50 al 82%, con una especificidad del 100% en tumores bien-moderadamente diferenciados ^(218,28).

En los colangiocarcinomas se ha descrito positividad del citoplasma o de la superficie celular luminal en el 75 a 85% de los casos.

E. ALFA-1-ANTITRIPSINA (AAT)

Es una globulina plásmatica, reactante de fase aguda que actúa inhibiendo la tripsina, elastasa y otras enzimas proteolíticas.

Su déficit provoca cirrosis que puede complicarse con el desarrollo de tumores hepáticos. En estos casos, tanto el tumor como el tejido hepático no tumoral presentan glóbulos intracitoplasmáticos positivos a la AAT secundarios a un defecto en la secreción de esta proteína. No obstante, la mayoría de los casos positivos a la AAT no son portadores de la enfermedad por déficit de alfa-1-antitripsina. No se conoce si su causa es un exceso en su producción o un defecto en su secreción.

De forma característica, este depósito es más frecuente en casos de hepatocarcinoma asociado a ingesta de anticonceptivos orales ⁽¹⁵⁶⁾ y en hepatocarcinomas fibrolamelares ⁽²⁴⁾.

Se presenta en un 6 a 73% de los tumores (hepatocarcinomas y colangiocarcinomas) y en un 13.4 a 68.7% de los casos en el tejido no tumoral, mayoritariamente cirrótico. Adquiere la forma

de un granulado fino en todo o parte del citoplasma de grupos o células aisladas. Las inclusiones eosinófilicas que aparecen en estos casos no se tiñen con las técnicas de inmunohistoquímica en la mayoría de los casos.

F. ALFA-FETOPROTEINA (AFP)

La alfa-fetoproteína es una glucoproteína sérica de Pm 72.000 y movilidad electroforética entre la albúmina y la alfa-1-globulina. Posee un 4% de carbohidratos en su molécula y es la mayor globulina fetal durante los primeros meses de la gestación. Su presencia en el ratón fue demostrada por Abelev y cols. en 1963 y en pacientes con tumores hepáticos por Tatarinov casi al mismo tiempo. Fue este último quien sugirió que la alfafetoproteína es un marcador de hepatocarcinoma sobre los resultados obtenidos en una pequeña serie de pacientes con esta enfermedad (1,199).

Está producida por el saco vitelino, hígado y mucosa del tracto gastrointestinal. En las 12 a 14 semanas alcanza la máxima concentración y a partir de ahí comienza a disminuir progresivamente hasta el parto, donde la concentración es de unos 10.000 a 100.000 ngr/ml, y a los diez meses se hace prácticamente indetectable ($<10\text{ngr/ml}$) ⁽²⁰⁶⁾. En el adulto los niveles normales de alfa-fetoproteína son de 0.1 a 5.8 ngr/ml ⁽¹²⁸⁾ o prácticamente por debajo de $1/10(7)$ nmol/l. Al mismo tiempo que esto ocurre, se elevan los niveles de albúmina de forma recíproca.

Se ha descrito positividad a esta globulina en los hepatocarcinomas, hepatoblastomas y en los hepato-colangiocarcinomas; esporádicamente en metástasis hepáticas de carcinomas digestivos,

en el hígado no tumoral y en la hiperplasia nodular focal, pero no en los colangiocarcinomas, adenomas ni sarcomas.

Aunque hasta el 80% de los pacientes con hepatocarcinomas tienen cifras séricas diagnósticas, sólo en el 12 a 60% de los casos se demuestra la presencia de esta proteína en las células. Esto puede deberse a la heterogeneidad de los tumores o al grado de diferenciación celular; así, los tumores grado III de Edmondson son los más frecuentemente positivos, seguidos de los grado II y IV. En los grado I es muy poco frecuente ^(24,80).

Su positividad está en relación directa con los niveles de alfa-fetoproteína en sangre y es independiente de la positividad de otros marcadores.

Se presenta como un granulado fino intracitoplásmico de células dispersas por el tumor o, con menos frecuencia, grupos de células. Algunas veces se ven células positivas no tumorales aisladas en la zona que rodea al tumor ⁽²⁰²⁾.

G. CITOQUERATINAS

Las citoqueratinas forman parte de la familia de los filamentos intermedios y son características de las células epiteliales. Forman parte de esta familia la vimentina, desmina, proteína ácida fibrilar de la glia (GFAP), los neurofilamentos y las citoqueratinas. Moll y colaboradores han identificado y catalogado 19 citoqueratinas diferentes en los epitelios humanos.

La función exacta de estos polipéptidos no se conoce pero

su expresión en un determinado epitelio suele mantenerse durante la transformación neoplásica e incluso durante el proceso de metástasis. Teóricamente, determinando el patrón de citoqueratina de un carcinoma o de una de sus metástasis se podría conocer su origen, pero en la práctica depende de la estirpe del tumor, de su grado de diferenciación heterogeneidad celular y la técnica no es totalmente específica.

El parénquima hepático tiene un patrón de citoqueratina sencillo:

- los hepatocitos expresan las citoqueratinas nº 8 y 18.
- las células ductales intrahepáticas expresan las citoqueratinas nº 8, 18, 7 y 19.

En los tumores hepáticos, el patrón de expresión es variable (209,210). Las células positivas aparecen teñidas con un fino granulado intracitoplasmático difusamente distribuido, con realce en la región próxima a la membrana plasmática y en el área pericanalicular posiblemente debido a la presencia de mayor número de desmosomas y tonofilamentos en esta localización. Los hepatocitos de los hígados no cirróticos tienen un patrón semejante al de los hígados cirróticos, aunque en estos últimos, las células situadas en la periferia de los nódulos de regeneración se tiñen con más intensidad que las próximas a la zona central del nódulo (92).

En los adenomas: son positivos a las citoqueratinas nº 8 y 18 pero negativos a las nº 7 y 19.

En la hiperplasia nodular focal: las células hepáticas de los nódulos son positivas a las citoqueratinas nº 8 y 18 y

esporádicamente a las nº 7 y 19, generalmente en los hepatocitos próximos a los conductos biliares y septos fibrosos. Las células ductales son positivas a las citoqueratinas nº 8, 18, 7 y 19.

En el hepatocarcinoma la mayoría de las células son positivas a las citoqueratinas nº 8 y 18. Hasta el 50% de los casos presentan también un patrón de inmunoreactividad a las citoqueratinas 7 y 19 en un número variable de células. En la variedad fibrolamelar el patrón es semejante con la salvedad de que sólo unas pocas células son positivas a la citoqueratina nº 19. La expresión de estas dos últimas citoqueratinas, propias del epitelio ductal, puede representar una diferenciación aberrante de los hepatocitos neoplásicos o un vestigio del origen común de ambas líneas celulares a partir de una célula madre (83,210).

Con respecto al colangiocarcinoma todos los casos descritos hasta la fecha presentan un patrón correspondiente al de las células ductales normales, es decir, que son células positivas para las citoqueratinas nº 7, 8, 18 y 19.

En los hepatocolangiocarcinomas las áreas hepatocelulares presentan la positividad descrita en el hepatocarcinoma, mientras que en las áreas colangiocelulares tienen el patrón del colangiocarcinoma. En las áreas mixtas, el patrón es mezcla de los dos anteriores.

Hepatoblastoma: los dos tipos celulares, fetal y embrionario, son positivos a las citoqueratinas nº 8, 18 y 19, aunque esta última es más intensa en el tipo embrionario que en el fetal. Algunas células embrionarias dispersas son positivas a la

citoqueratina nº 7. En las áreas embrionarias existe positividad focal a la vimentina mientras que en las áreas mesenquimales se expresa la vimentina pero no las citoqueratinas, aunque las células embebidas en la sustancia osteoide son positivas a las citoqueratinas nº 7, 18 y 19 ⁽²⁰⁸⁾.

H. OTROS ANTIGENOS

PROTEINA C REACTIVA

Esta proteína se sintetiza en el hígado y sus niveles séricos se encuentran elevados en multitud de situaciones, entre ellas los tumores hepáticos. Está presente hasta en el 85% de los hepatocarcinomas pero no es específica de los hepatocitos. De hecho, ha sido descrita en colangiocarcinomas, adenocarcinomas indiferenciados y metástasis de adenocarcinoma pancreático.

ANTIGENOS DE GRUPO SANGUINEO ABH Y LEWIS

Estos antígenos son glucoproteínas y glucolípidos de la membrana celular expresados en diversos tejidos. En el hígado, existe una abundante expresión de ABH y Lewis en las células del epitelio biliar pero su expresión en los hepatocitos está totalmente suprimida. Esto suele mantenerse durante la carcinogénesis pero, al igual que con otros antígenos, existen expresiones aberrantes y neoexpresiones variables que disminuyen la especificidad de la técnica.

FACTOR XIIa

Este factor es una proteína plasmática que actúa como proenzima en la coagulación favoreciendo la formación de enlaces cruzados entre las moléculas adyacentes de fibrina y estabilizando el coágulo ⁽⁷⁷⁾. Está formado por dos subunidades, A que es la activa, y S que es la transportadora.

Aunque no es sintetizado por los hepatocitos, este factor es expresado por histiocitos, células de Kupfer, fibroblastos de los espacios porta y, en menor proporción, en los hepatocitos ^(57,85). Asimismo, se encuentra presente en los hepatocitos neoplásicos en el 63% de los hepatocarcinomas pero no en los colangiocarcinomas.

Los demás antígenos descritos tienen una sensibilidad y una especificidad bajas en las pocas series que sobre ellos se han hecho.

II. OBJETIVOS

O B J E T I V O S

Debido al mal pronóstico que tienen los tumores primarios de hígado, en los últimos años se ha prestado especial atención al estudio de los factores etiológicos, con el fin de prevenir su aparición, y a la mejora de la técnica quirúrgica, transplante y resecciones hepáticas funcionales.

Desde el punto de vista microscópico no ha habido progresos importantes hasta la introducción de las técnicas inmunohistoquímicas, las cuales se han aplicado fundamentalmente al diagnóstico diferencial entre ellos y con los tumores secundarios.

El objetivo principal de este trabajo es describir ampliamente estos tumores y perfeccionar el establecimiento del grado de diferenciación de los hepatocarcinomas, que es la variable morfológica más relacionada con el pronóstico de los mismos.

Para ello hemos introducido variables morfológicas nuevas y hemos aplicado los datos inmunohistoquímicos siguiendo los siguientes pasos:

- Descripción microscópica de los tumores hepáticos primarios con técnicas clásicas complementada con técnicas de inmunohistoquímica.
- Relación de las variables morfológicas con las variables clínicas.
- Relación del grado de diferenciación con variables morfológicas clásicas e inmunohistoquímicas.

III. MATERIAL

Y

METODOS

M A T E R I A L Y M E T O D O S

1. SELECCION DE CASOS.

Tras obtener todos los casos diagnosticados de tumor hepático epitelial primario en el Hospital Universitario San Carlos entre los años 1969 y 1991, utilizamos las técnicas habituales de microscopía óptica para agruparlos por neoplasias específicas de acuerdo con criterios morfológicos microscópicos. De ellas rechazamos los tumores benignos, constituidos por adenomas, hiperplasia nodular focal, angioma cavernoso y otras neoplasias más raras, y estudiamos los malignos.

En la selección de los casos hemos utilizado criterios anatomopatológicos.

De un total de 200 casos se ha dispuesto de 163 biopsias, de las cuales 74 proceden de punción y 86 son piezas quirúrgicas. Cada una de ellas se ha considerado como "caso", aunque en realidad el número de enfermos es de 160. A tres de ellos se les biopsió dos veces, primero por punción y posteriormente se analizó la pieza quirúrgica.

De los casos procedentes de piezas quirúrgicas incluídas en parafina, se obtuvo la cantidad de tejido necesaria para realizar un estudio inmunohistoquímico. De los casos procedentes de punción no se obtuvo tejido para este estudio por insuficiencia de material.

2. ESTUDIO CLINICO

Los pacientes incluídos en este estudio proceden de los distintos servicios de Cirugía y de Medicina Interna del Hospital Universitario San Carlos.

De los 160 casos con material para el estudio microscópico, la historia clínica ha sido localizada y estudiada en 87.

Distintos factores como pérdida del seguimiento del paciente, variedad de servicios remitentes o antigüedad del caso, no han hecho posible el estudio clínico de todos ellos.

En este apartado se ha elaborado un protocolo compuesto por filiación, síntomas, signos y datos analíticos, terapéuticos y evolutivos de cada caso, que se expone seguidamente, para, posteriormente, llevar a cabo un análisis estadístico de las cifras (Tabla V).

TABLA V. Protocolo de estudio clínico

1.- EDAD: Décadas

2.- SEXO: a.Hombre b.Mujer

3.- DOLOR ABDOMINAL: a.Si b.No

4.- HIPERSENSIBILIDAD LOCAL: a.Si b.No

5.- ASTENIA: a.Si b.No

- 6.- ANOREXIA: a.Si b.No
- 7.- CIRROSIS: a.Si b.No
- 8.- HEPATOMEGALIA: a.Si b.No
- 9.- ICTERICIA: a.Si b.No
- 10.- ASCITIS: a.Si b.No
- 11.- ANALITICA:
 - 1/ FOSFATASA ALCALINA: a.Normal b.Disminuido c.Aumentado
 - 2/ GOT: a.Normal b.Disminuido c.Aumentado
 - 3/ GPT: a.Normal b.Disminuido c.Aumentado
 - 4/ GGT: a.Normal b.Disminuido c.Aumentado
 - 5/ ALBUMINA: a.Normal b.Disminuido c.Aumentado
 - 6/ BILIRRUBINA TOTAL: a.Normal b.Disminuido c.Aumentado
 - 7/ HEMOGLOBINA: a.Normal b.Disminuido c.Aumentado
 - 8/ LEUCOCITOS: a.Normal b.Disminuido c.Aumentado
 - 9/ PLAQUETAS: a.Normal b.Disminuido c.Aumentado
 - 10/ TP: a.Normal b.Disminuido c.Elevado
 - 11/ ALFA-FETOPROTEINA: a.Elevada b.Normal
 - 12/ AgHBs: a.Positivo b.Negativo

3. ESTUDIO MORFOLOGICO

Se realizó un estudio individualizado de los casos utilizando la metodología habitual de fijación en formol al 10% e inclusión en parafina.

Las tinciones de rutina utilizadas fueron hematoxilina-eosina, PAS, tricrómico de Masson, reticulina, azul de Perls y orceína.

La valoración morfológica inicial se llevó a cabo de acuerdo a un protocolo semicuantitativo que contemplaba un total de 35 parámetros con diferentes categorías. Dicho protocolo se incluye a continuación. (tabla VI).

Las características morfológicas estudiadas en este apartado son las descritas en la literatura para cada tipo tumoral.

TABLA VI. Protocolo de estudio morfológico.

- 1.- CLASIFICACION :
 1. Hepatocarcinoma
 2. Colangiocarcinoma
 3. Hepato-colangiocarcinoma
 4. Hepatoblastoma
- 2.- LIMITE :
 1. Completo
 2. Incompleto
 3. Ninguno
- 3.- ARQUITECTURA :
 - 1) Específica: a.Trabecular b.Acinar c.Mixta
 - 2) Inespecífica
- 4.- NECROSIS :
 - 1.Focos
 - 2.Areas
 - 3.Extensa
 - 4.No existe
- 5.- ESTROMA :
 - 1) Cantidad: a.Escasa b.Moderada c.Abundante
 - 2) Septos: a.Completos b.Incompletos c.No existen
 - 3) Infiltrado inflamatorio septal:
 - a.Escaso
 - b.Moderado
 - c.No existe

6.- VASCULARIZACION : 1. Escasa 2. Moderada

7.- INFILTRADOS CELULARES :

- 1) Existencia: a.Si b.No
- 2) Localizacion: a.Intersticio b.Sinusoides c.Ambos
d.No existe
- 3) Tipo: a.Polimorfonucleares b.Linfocitos c.Eosinófilos
d.Varias células sanguíneas e.No existe

8.- HEMORRAGIA : 1. Focos 2. Extensa 3. No existe

9.- CAPILARES BILIARES :Trombos. 1. Si 2. No

10.- DEPOSITOS :

- 1) EXISTENCIA: a.Si b.No
- 2) CANTIDAD: a.Leve b.Intenso c.No existe
- 3) LOCALIZACION: a.Células sinusoidales b.Intersticio
c.Alvéolo d.No existe e.Varios
- 4) TIPO : a.Hierro b.Bilis c.Moco d.No existe e.Varios

11.- CELULA TUMORAL :

- 1) NUMERO : a.Uno b.Dos o más
- 2) FORMA : a.Alargada b.Cuboide
- 3) TAMAÑO : a.Pequeño b.Mediano c.Grande d.Gigante

12.- CITOPLASMA:

- 1) CANTIDAD : a.Abundante b.Medio c.Escaso
- 2) TIPO : a.Granular b.Homogéneo
- 3) EOSINOFILIA : a.Escasa b.Moderada c.PAS+
- 4) CONTENIDO : a.Hialina b.Esmerilado c.Grasa d.Bilis
e.Hierro f.No existe g.Glóbulos eosinófilos h.Varios

13.- NUCLEO :

- 1) TAMAÑO : a.Grande b.Mediano c.Pequeño
- 2) CANTIDAD : a.Unico b.Varios

14.-NUCLEOLO :

- 1) LOCALIZACION : a.Central b.Lateralizado
- 2) TAMAÑO : a.Grande b.Mediano c.Pequeño
- 3) CANTIDAD : a.Unico b.Varios
- 4) APETENCIA TINTORIAL : a.Acidófilo b.Basófilo

15.- ANGIOINVASION : 1. Si 2. No

16.- GRADO DE DIFERENCIACION : 1. I 2. II 3. III 4. IV

17.- RESTO : 1. Cirrosis 2. Hepatitis crónica 3. Normal
4. Colestasis 5. No hay 6. Esteatosis 7. Hierro

18.- INMUNOHISTOQUIMICA :

- 1) AgHBs : a.Positivo b.Negativo
- 2) AgHBc : a.Positivo b.Negativo
- 3) CEA : a.Positivo-canalicular b.Positivo-no c. c.Negativo
- 4) AlAT : a.Positivo b.Negativo
- 5) AFETO : a.Positivo b.Negativo

Esta fase se realizó sin conocer los datos clínicos de los enfermos.

En cada caso hemos estudiado el tejido neoplásico en profundidad y el parénquima hepático no tumoral.

En el primero hemos analizado las características morfológicas de todo el tumor para pasar a continuación a un estudio detallado de su citopatología.

En el tumor hemos valorado las siguientes variables:

- La continuidad o no del límite del tumor con el resto del hígado en la pieza de biopsia.
- La arquitectura del tumor, considerando trabecular al que sólo tiene trabéculas, pseudoglandular al que la inmensa mayoría de las unidades estructurales son acinos, mixto al que presenta trabéculas y pseudoglándulas, por escasas que éstas sean, e inespecífica a la que no se puede encuadrar en ninguno de los tipos anteriores.
- La presencia y cantidad de lisis celular.
- El estroma tumoral ha sido estudiado bajo tres apartados:
 - * cantidad: 1) Escaso: tiene lo imprescindible para mantener la arquitectura tumoral. 2) Moderado: tiene el intersticio más ancho que en el apartado anterior o/y existen septos ramificados. 3) Abundante: existe gran cantidad de tejido intersticial, generalmente sin septos entre los grupos de células neoplásicas. 4) Muy abundante: la mayor parte del tumor es estroma. Las células tumorales forman pequeños grupos separados por tejido conjuntivo.
 - * septos: completos o terminan rodeados por células tumorales.
 - * infiltrado inflamatorio en los septos a) ausente, b) escaso o c) abundante.
- Vascularización del tumor escasa o moderada.
- La presencia, localización y tipo de infiltrados celulares en el tumor. La localización puede ser en el intersticio o en los sinusoides. El tipo celular se distingue entre

- polimorfonucleares, células plasmáticas, o varias de ellas.
- La cantidad y localización de los hematíes dentro del tumor.
 - La presencia y extensión de la hemorragia bien sea ésta localizada o extensa.
 - La presencia o ausencia de trombos biliares localizados en los canalículos.
 - Los depósitos extracelulares de sustancias en el tumor: lo valoramos bajo tres variables: presencia, cantidad (leve o intensa), tipo (hierro, bilis, moco u otro) y localización (intersticio, células sinusoidales o alvéolos).
 - En la célula tumoral valoramos varias características que agrupamos del siguiente modo: en primer lugar determinamos el número de tipos celulares que existen para estudiar en cada uno de ellos los demás detalles. Seguidamente definimos la forma de las células y su tamaño con relación al hepatocito no tumoral, considerando que este tiene un tamaño mediano.
 - Centrados en el citoplasma, estimamos su cantidad, aspecto (granular u homogéneo), su eosinofilia graduada de 1 a 3, todo ello con respecto al hepatocito no tumoral, que tendría una cantidad media de citoplasma y eosinofilia 2. Hacemos mención especial del contenido cualitativo que pueda existir en el interior de la célula, bien sea hialina de Mallory, grasa, glóbulos hialinos, bilis o algún otro.
 - En el núcleo estudiamos y clasificamos su tamaño, número y disposición de la cromatina, con respecto al hepatocito no neoplásico, el cual tendría un núcleo mediano, único y de cromatina dispuesta por dentro y siguiendo el contorno la membrana nuclear.
 - El nucleolo lo caracterizamos según su localización en el núcleo, tamaño, número y apetencia tintorial, bien sea

basófilo o eosinófilo.

- La invasión vascular del tumor en el corte bien sea de los sinusoides o de vasos de pequeño y mediano calibre que puedan aparecer.
- Por último asignamos el grado de diferenciación siguiendo la clasificación de Edmondson.
- En el parénquima hepático no tumoral valoramos su morfología y el diagnóstico de la hepatopatía que pudiera presentar, sin detallar más características.

4. INMUNOHISTOQUIMICA

Los casos en que disponíamos material suficiente para realizar nuevos cortes en parafina de 5 micras, fueron seleccionados para llevar a cabo técnicas de inmunohistoquímica con anticuerpos policlonales, en total 67 casos.

Este proceso se desarrolló según la técnica de Sternberger, peroxidasa-antiperoxidasa, con suero normal de cerdo a títulos de 1/10, suero primario específico a diluciones distintas en cada caso, suero secundario de cerdo a 1/100 y PAP a 1/100.

Los anticuerpos primarios utilizados y sus diluciones figuran en la tabla adjunta. En todos los casos utilizamos un tejido control en el que previamente habíamos ajustado la dilución óptima del anticuerpo a emplear (tabla VII).

TABLA VII. Material de estudio inmunohistoquímico.

<u>Suero primario</u>	<u>Dilución</u>	<u>Procedencia</u>
Anti-AgHBs	1/75	Dako
Anti-AgHBc	1/100	Dako
Anti-CEA	1/100	Dako
Anti-AlAT	1/100	Dako
Anti-Afeto	1/100	Dako

A. ANTIGENO DE SUPERFICIE DEL VIRUS B DE LA HEPATITIS

Este antígeno, también denominado antígeno Australia, es una partícula glucoproteica de 22 nm compuesta por dos polipéptidos, que corresponde a la cubierta viral.

Se localiza en el citoplasma de los hepatocitos, normales y neoplásicos, y ocasionalmente en el núcleo.

Se ha utilizado el anticuerpo de Dako a dilución 1/75 y por tejido control un fragmento de hígado con hepatitis aguda por virus B.

B. ANTIGENO NUCLEAR DEL VIRUS B DE LA HEPATITIS

Este antígeno es una proteína expresada en la superficie de la nucleocápside viral. No da una reacción cruzada con el AgHBs.

Las partículas nucleares se localizan en los núcleos de los hepatocitos, normales y neoplásicos, pero no circulan en el suero. Ocasionalmente es positivo en el citoplasma de estas células y en su membrana (Figura 10).

Para su detección se utilizó el suero primario de Dako a dilución 1/100 y por tejido control una hepatitis aguda por virus B.

C. ANTIGENO CARCINOEMBRIONARIO

Estos antígenos pertenecen a la familia de las gluco-proteínas y se localizan en la superficie de la membrana celular de la mucosa gastrointestinal, bronquioalveolar normal y de varios tumores.

En el hígado aparecen en el glicocáliz del hepatocito neoplásico y de las células ductales tumorales. En estas últimas también se localiza en el citoplasma.

Para su detección hemos utilizado el anticuerpo policlonal de Dako a diluciones 1/100. Como tejido control se dispuso de un adenocarcinoma de colon.

D. ALFA-1-ANTITRIPSINA

El antígeno con el que reaccionan este tipo de anticuerpos es una proteína sérica del adulto que se puede encontrar en el citoplasma de varios tipos celulares.

En los tumores hepáticos presenta una positividad intracitoplásmica de los hepatocarcinomas y colangiocarcinomas.

Hemos empleado el anticuerpo policlonal de Dako a dilución 1/100 y como tejido control tejido pancreático normal.

E. ALFA-FETOPROTEINA.

Estos anticuerpos reaccionan con una globulina fetal sérica que desaparece tras el parto pero que puede ser detectada en diversos tumores.

Se localiza en el citoplasma de las células de los hepatocarcinomas, hepatoblastomas, algunas metástasis hepáticas de tumores digestivos, pero está ausente en los colangio-carcinomas y sarcomas.

Hemos utilizado el anticuerpo policlonal de Dako a dilución de 1/100 y empleado como tejido control la metástasis cerebral de un coriocarcinoma.

5. ESTUDIO ESTADISTICO

Los valores estudiados lo fueron como variables categóricas (dos o más categorías). Se presentan con tablas de frecuencias y porcentajes. Se realizaron gráficos de barras, diagramas de frecuencias y gráficos de sectores.

La significación estadística se realizó mediante el contraste Chi-cuadrado y la Chi-cuadrado corregida por Yates para datos independientes y el contraste de McNemar para datos apareados. Se valoran niveles de significación inferiores a 0.05.

El estudio estadístico se realizó mediante un ordenador Microvax-Z de Digital y paquetes elaborados en el Servicio de Bioestadística de la Clínica Puerta de Hierro.

III. RESULTADOS

R E S U L T A D O S

1. DATOS CLINICOS

A. FRECUENCIA, EDAD Y SEXO.

Un total de 160 casos han sido diagnosticados de tumor hepático primario mediante biopsia en el Hospital Universitario San Carlos de Madrid entre los años 1969 y 1991.

Los 160 casos han sido sometidos al estudio retrospectivo de sus historias clínicas, siendo eliminados 62 por diversos motivos (extravío de las mismas, ausencia de exploraciones, etc) quedando para su estudio 87.

La distribución de estos 87 casos por **sexo** es de 59 hombres y 28 mujeres, lo que da una relación hombre/mujer de 2.1, siendo, por tanto, el 67.82% hombres y 32.18% mujeres.(fig.11)

Con respecto a la **edad**, los casos se distribuyeron en décadas, encontrándose un mínimo de 24 días y un máximo de 83 años. Las edades se distribuyeron de la siguiente manera (figura 12):

EDAD	PACIENTES
0 a 30 años	2
31 a 40 años	1
41 a 50 años	1
51 a 60 años	26

61 a 70 años	30
71 a 80 años	24
Más de 80	3

De tal manera que la máxima incidencia se observa entre los 61 y los 70 años, seguido del grupo de enfermos entre 51 y 60 años. La proporción por décadas queda como sigue:

0 a 30 años	2.30%
31 a 40 años	1.15%
41 a 50 años	1.15%
51 a 60 años	29.90%
61 a 70 años	34.48%
71 a 80 años	27.57%
Más de 80	3.45%

Relacionando la tabla de edad con la clasificación de los tumores hepáticos primarios, obtenemos que el hepatocarcinoma es más frecuente en la sexta, séptima y octava décadas, al igual que ocurre con el colangiocarcinoma y el tumor combinado. Sin embargo el hepatoblastoma es más frecuente en el primer año de la vida. Cabe destacar que de los tres hepatoblastomas diagnosticados, uno lo fue a los 24 días de vida, otro a los seis meses y el tercero a los 76 años.

B. SIGNOS Y SINTOMAS

Las manifestaciones clínicas más frecuentes fueron el dolor abdominal, astenia y anorexia, con la siguiente frecuencia:

Dolor abdominal	55 casos (63.22%)
Astenia	52 casos (59.77%)
Anorexia	49 casos (56.32%)

El dolor suele ser sordo, localizado en hipocondrio derecho o en epigastrio y mesogastrio irradiado al hipocondrio derecho. Es más frecuente en sujetos con antecedentes de ingesta etílica.

Con menor incidencia apareció hipersensibilidad local (12.64%), pérdida de peso (32.16%), disnea (6%), shock hipovolémico por hemoperitoneo (2%).

Sesenta pacientes, el 68.96%, estaban diagnosticados de cirrosis previamente al tumor, no estándolo el 31.04% restante (figura 13).

TABLA VIII. Signos y síntomas

VARIABLE	(%)
Dolor abdominal	63.83
Astenia	59.60
Anorexia	56.27
Cirrosis	68.96
Hipersensibilidad local	12.30
Pérdida de peso	32.16
Disnea	6.89
Hemoperitoneo	2.2

C. EXPLORACION FISICA

- HEPATOMEGALIA: se encontró el hígado aumentado de tamaño en 79 casos (90.80%), siendo normal en 8 casos (9.2%). En cuanto a las características de la hepatomegalia, se observó que era de consistencia pétrea en 46 casos (52.87%), nodular en 16 casos, (18.39%), blanda en 25 casos (28.73%).

- ICTERICIA: se observó ictericia de piel y mucosas en 43 casos (49.43%), estando ausente en el 50.57% restante.

- SOPLO: se auscultó un soplo en el hipocondrio derecho en dos casos (2.29%).

- ESPLENOMEGALIA: estaba presente en 21 casos (24.13%) y ausente en el 75.87% restante.

- CIRCULACION COLATERAL: era evidente en 27 casos (31.03%), todos ellos cirróticos.

- ESTIGMAS DE HEPATOPATIA: comprenden arañas vasculares, eritema palmar, ginecomastia y distribución feminoide del vello pubiano. Se encontraron presentes en 38 casos (43.67%), todos ellos cirróticos.

- ASCITIS: estaba presente en 39 casos (44.82%), y ausente en el 55.18%.

- DISTENSION ABDOMINAL: se presentaba en 7 casos (8.04%), dos de ellos por hemoperitoneo secundario a rotura espontánea del tumor.

- DESNUTRICION: se manifestaba en 22 casos (25.28%).

- FIEBRE: aumento de la temperatura corporal sin ningún foco infeccioso evidente, fue detectado en 14 casos (16.09%).
(figura 14).

TABLA IX. Exploración física.

VARIABLE	(%)
Hepatomegalia	90.80
Ictericia	50.57
Soplo	2.29
Esplenomegalia	24.13
Circulación colateral	31.03
Estigmas	43.67
Ascitis	44.82
Desnutrición	25.28
Fiebre	16.09

D. EXAMENES COMPLEMENTARIOS

1. RESULTADOS HEMATOLOGICOS:

1.A. Serie roja:

a) HEMATIES: sólo se observó un caso (1.14%), con cifras por encima de los valores normales. Veintiuno (24.13%), tenían valores normales y los 62 restantes estaban entre los 2.5 y los 4.5 millones.

b) HEMATOCRITO: se observaron los siguientes resultados:

< 21%	1 caso	1.14%
De 22 a 31	13 casos	15.46%
De 32 a 41	47 casos	53.61%
De 42 a 52	24 casos	27.58%
De 53 a 57	2 casos	2.28%

c) HEMOGLOBINA: en ningún caso existieron valores superiores a lo normal y en 9 casos las cifras eran menores de 9 gr/dl.

Los resultados son los siguientes:

De 14 a 18 gr/dl	28 casos	32.18%
De 10 a 13 gr/dl	50 casos	57.47%
De 6 a 9 gr/dl	9 casos	10.34%

1.B. Serie blanca:

a) LEUCOCITOS: los resultados fueron los siguientes:

De 16 a 45 mil	5 casos	5.75%
De 10 a 16 mil	16 casos	18.39%
De 5 a 10 mil	60 casos	68.97%
< 5 mil	6 casos	6.90%

b) FORMULA LEUCOCITARIA:

- Cayados: se encontraron valores normales en 34 casos (39.08%); entre 3 y 10% había 36 (41.37%) y entre 10 y 20%, diecisiete (19.54%).

- Segmentados: existían valores normales en 44 casos (50.57%), entre 65 y 75% veinticuatro casos (27.58%) y entre 76 y 86%, diecinueve casos (21.83%).

- Linfocitos: sus cifras eran normales en 29 casos (33.33%); entre 50 y 40%, diez casos (11.34%); entre 30 y 40% 13 casos (14.94%) y entre 20 y 30% 8 casos (9.27%).

- Monocitos: se encontraban en cifras normales 44 casos (50.57%); entre 0 y 2%, 31 casos (35.63%); entre 6 y 8%, nueve casos (10.34%) y entre 8 y 11%, tres (3.44%).

- Eosinófilos: eran normales 73 casos (83.90%); entre 3 y 5%, diez casos (11.49%) y entre 5 y 12%, cuatro (4.59%).

- Basófilos: fueron normales 79 casos (90.80%) y entre el 1 y 3%, ocho casos (9.19%) restante.

Además 6 casos tenían formas inmaduras en su fórmula

(6.89%), y dos (2.28%) tenía anisocitos.

1.C. PLAQUETAS:

Sólo pudieron evaluarse en 48 casos, dando los resultados siguientes:

- cifras normales en 10 casos (20.83%)
- trombocitosis en 2 casos (4.17%)
- trombopenia en 36 casos (75.00%)

1.D. COAGULACION:

Se midió el tiempo de protrombina en 53 casos siendo normal en 14 casos (26.41%) y disminuído en los 39 restantes (73.58%).

El tiempo de tromboplastina parcial activada se evaluó en 21 casos, encontrándose normal en 6 (28.57%) y disminuído en 15 (71.42%).

1.E. VELOCIDAD DE SEDIMENTACION:

Fue medida en 62 casos; en 4 era normal (6.45%); en 20 estaba entre 10 y 30 mm/h (32.25%); en 16 estaba entre 31 y 50 mm/h (25.80%); en 18 estaba entre 51 y 70 mm/h (29.03%) y en 4 entre 71 y 100 mm/h (6.45%). (Tabla X).

TABLA X. Resultados hematológicos.

	AUMENTADO(%)	NORMAL(%)	DISMINUIDO(%)
A.- Hematíes	1.14	24.13	74.73
Hematocrito	2.21	27.58	70.21
Hemoglobina	-	32.18	67.81
B.- Leucocitos	25.93	68.81	7.21
C.- Plaquetas	4.08	20.40	75.51
D.- TP	-	26.41	73.58
APTT	-	28.57	71.42
E.- VSG	93.55	6.45	-

2. RESULTADOS BIOQUIMICOS: (TABLA XI)

2.1. Aminotransferasa de aspartato (AST,GOT):

De 5 a 50 Uk/ml	9 casos	10.34%
De 50 a 150 Uk/ml	45 casos	51.72%
De 150 a 300 Uk/ml	19 casos	21.84%
> 300 Uk/ml	14 casos	16.09%

2.2. Aminotransferasa de alanina (ALT,GPT):

De 5 a 50 Uk/ml	23 casos	26.44%
De 50 a 150 Uk/ml	49 casos	56.32%
De 150 a 300 Uk/ml	6 casos	6.90%
> 300 Uk/ml	9 casos	10.34%

2.3. Gamma-glutamil transpeptidasa (GGT): sólo pudo obtenerse esta determinación en 53 casos.

De 0 a 60 U/l	14 casos	26.42%
De 60 a 150 U/l	26 casos	49.06%
De 150 a 300 U/l	10 casos	18.87%
>300 U/l	3 casos	5.66%

2.4. Láctico deshidrogenasa (LDH):

De 115 a 240 U/ml	34 casos	39.08%
De 241 a 440 U/ml	29 casos	33.33%
De 441 a 630 U/ml	14 casos	16.09%
>630 U/ml	10 casos	11.49%

2.5. FOSFATASA ALCALINA:

De 20 a 115 U/l	28 casos	32.18%
De 116 a 250 U/l	26 casos	29.89%
De 251 a 350 U/l	17 casos	19.54%
> 350 U/l	16 casos	18.39%

2.6. BILIRRUBINA TOTAL:

De 0.2 a 1 mgr/dl	24 casos	27.59%
De 1.1 a 5.5 mgr/dl	41 casos	47.13%
De 5.5 a 10.5 mgr/dl	7 casos	8.05%
>10.5 mgr/dl	15 casos	17.24%

2.7. UREA:

De 10 a 30 mgr/dl	51 casos	58.62%
De 30 a 60 mgr/dl	24 casos	27.58%
De 60 a 100 mgr/dl	4 casos	4.59%

2.8. COLESTEROL:

De 150 a 240 mgr/dl	69 casos	79.31%
De 241 a 300 mgr/dl	10 casos	11.49%
De 301 a 350 mgr/dl	5 casos	5.74%
> 350 mgr/dl	3 casos	3.44%

2.9. GLUCEMIA:

De 80 a 120 mgr/dl	67 casos	77.01%
De 121 a 200 mgr/dl	15 casos	17.24%
De 201 a 250 mgr/dl	4 casos	4.59%
> 250 mgr/dl	1 caso	1.14%

2.10. CALCIO:

< 9 mgr/dl	10 casos	19.49%
De 9 a 10.5 mgr/dl	68 casos	78.16%
De 10.6 a 11.4 mgr/dl	3 casos	3.44%
De 11.5 a 12.5 mgr/dl	5 casos	5.74%
> 12.6 mgr/dl	1 caso	1.14%

2.11. FOSFORO: sólo se pudieron recoger datos de 76 casos.

< 3 mgr/dl	3 casos	3.94%
De 3.1 a 4.5 mgr/dl	64 casos	84.21%
De 4.6 a 5 mgr/dl	3 casos	3.94%
> 5 mgr/dl	6 casos	7.89%

2.12. PROTEINAS TOTALES: se recogió en 84 casos, de los que 69, (82.14%), estaba entre los valores normales, aumentado en 8, (9.52%) y disminuído en 7, (8.33%).

2.13. ALBUMINA: los valores obtenidos se distribuyeron de la siguiente manera:

En un caso, el 1.19%, fue normal; en ninguno estaba por encima de los valores normales; en el resto estaba disminuída

según los datos siguientes:

De 3.2 a 4.5 gr/dl	19 casos	22.61%
De 1.5 a 3.1 gr/dl	64 casos	76.19%

TABLA XI. Resultados bioquímicos.

VARIABLE	Aumentado(%)	Normal(%)	Disminuido(%)
AST	89.64	10.34	-
ALT	73.82	25.77	-
GGT	73.51	26.41	-
LDH	60.91	39.08	-
Fosfatasa alcalina	67.81	32.18	-
Bilirrubina total	72.40	27.58	-
Urea	41.36	58.62	-
Colesterol	20.67	79.31	-
Glucemia	22.97	77.03	-
Calcio	10.32	78.16	11.49
Fósforo	11.83	84.21	3.94
Proteínas totales	9.52	82.14	8.33
Albúmina	-	1.19	98.81

3. RESULTADOS INMUNOLOGICOS

La determinación de inmunoglobulinas G,A,M y D no fue posible en todos los casos, recogiendo los siguientes resultados:

* Inmunoglobulina G: fueron normales las cifras de 5 casos (15.12%), disminuidas en un caso (3.12%) y aumentada en 26 casos (81.25%).

* Inmunoglobulina A: se encontraron valores normales en 4 casos (12.50%), disminuida en 3 casos (9.37%) y aumentada en 25 casos (78.12%).

* Inmunoglobulina M: estaba entre valores normales en 5 casos (15.62%), disminuidas en dos casos (6.25%) y aumentada en 25 casos (78.12%).

* Inmunoglobulina D: se determinó únicamente en 19 casos, siendo normal en 12 de ellos (63.15%) y aumentada en 7 (36.84%).

4. MARCADORES SEROLOGICOS:

A. HEPATITIS A:

Sólo se han obtenido datos de este apartado en 9 casos. Los resultados fueron: positividad en un caso (12.22%) y negatividad en ocho (88.88%).

B. HEPATITIS B:

Se ha localizado en 77 enfermos, encontrando los siguientes resultados:

- AgHBs: se determinó en todos los casos. Fue negativo en 67 casos (87.01%) y positivo en 10 (12.99%).

- HBsAc: sólo se determinó en 28 casos, siendo positivo en 12 (42.85%) y en 16 fue negativo (57.14%).

- HBcAC: se determinó en 14 casos, siendo positivo en 2 (14.28%) y negativo en doce (85.71%).

- HBeAg: se determinó en once casos, siendo positivo en 3 (27.27%) y negativo en los ocho restantes (72.72%).

- HBeAc: se realizó en 19 casos siendo positivo en 16 (84.21%) y negativo en tres (15.78%).

No se han recogido datos sobre la serología de la hepatitis C pues en el último año en estudio aún no estaba comercializada esta determinación.

C. ALFA-FETOPROTEINA:

Se solicitó en 87 casos, de los que 32 fueron negativos (36.78%) y 55 positivos (63.22%).

2. DATOS MORFOLOGICOS

A. CARACTERISTICAS GENERALES

Como se ha mencionado en la sección de Material y Métodos, se han estudiado las características morfológicas microscópicas de 160 casos de forma independiente al estudio clínico. Para ello las hemos agrupado en características generales del tumor en su conjunto, características citopatológicas y características inmunohistoquímicas. Dentro de las segundas hemos estudiado la célula en general, el citoplasma, el núcleo y el nucleolo. En los casos en que existen dos tipos celulares, hemos estudiado por separado las características de ambas células y las relaciones entre sí.

Atendiendo a la **clasificación** de los tumores hepáticos primarios, hemos encontrado 141 carcinomas hepatocelulares, lo

que representa el 88.2% de los mismos; once colangiocarcinomas, lo que supone un 6.9%; cinco hepatocolangiocarcinomas, que implica un 3.1% y tres hepatoblastomas que se traduce en un 1.8%. (figura 15)

Dentro de los carcinomas hepatocelulares, y teniendo en cuenta sus variedades, en nuestra serie están presentes un hepatocarcinoma de células claras, un hepatocarcinoma de células fusiformes, un carcinosarcoma y un hepatocarcinoma esclerosante, por lo que cada uno de ellos representa un 0.7% de los hepatocarcinomas y un 0.6% de todos los tumores hepáticos primarios.

El **límite** del tumor con el tejido donde asienta es variable pero en la mayoría de los casos hay ausencia total o parcial de la cápsula, en 72 (48.64%) y en 68 (45.94%) respectivamente. Sólo en ocho casos (5.40%) el tumor es encapsulado.

La **arquitectura** del tumor sólo puede definirse como específica en los hepatocarcinomas y en los tumores combinados. Los colangiocarcinomas y los hepatoblastomas han mostrado arquitectura inespecífica. Además, hemos encontrado 21 casos de carcinomas hepatocelulares y de tumores mixtos con arquitectura inespecífica. De los tumores con arquitectura específica, setenta y cinco son trabeculares (55.97%), seis son pseudoglandulares (4.47%) y treinta y dos son mixtos, trabéculo-alveolares (23.88%). Es frecuente que un mismo tumor presente dos o, más raro, tres tipos arquitecturales distintos en diferentes áreas y, además, que las trabéculas y acinos tengan diferente morfología de unas a otras, variando el grosor de la trabécula, la altura de las células acinares y el contenido de estos últimos (bilis, moco, plasma). Hay que advertir, no obstante, que la preparación del tejido para su estudio puede influir en estas

variaciones.

Más de la mitad de los tumores primarios malignos del hígado presentan **necrosis**. Esta puede ser focal (existe en el 6.08% de los casos), con uno o varios grupos de células neoplásicas necrosadas o en vías de necrosis; afectar a uno o varios campos tumorales (33.78%), o ser extensa (14.18%). Excepcionalmente todo el tumor está necrosado. En el 45.94% de los casos no existe necrosis tumoral.

El **estroma** fibroso del tumor se distribuye alrededor de las trabéculas y acinos, de los vasos sanguíneos, conductos biliares y en el intersticio que pueda haber entre los neovasos y las células tumorales. También se encuentra formando parte de los septos conjuntivos. A menor diferenciación tumoral suele haber mayor cantidad de estroma y arquitectura más inespecífica. En los colangiocarcinomas es característica la moderada-intensa reacción desmoplásica que existe alrededor de las células tumorales.

Para estudiar el estroma tumoral diferenciamos la cantidad del mismo que existe en cada caso, de los septos, presencia y características. Así, obtuvimos que la mayoría de los tumores, el 58.10%, tienen una cantidad de estroma semejante a la del hígado no tumoral, mientras que el 37.16% tiene una menor cantidad y en el 12.83% es muy abundante. Exceptuando el colangiocarcinoma, en el 5.40% de los tumores primarios del hígado existe una cantidad de estroma muy abundante.

Por otro lado existen **septos** en el 42.56% de los tumores, siendo incompletos, es decir, que terminan rodeados por células neoplásicas, en un 37.16% de los casos y completos en el 5.40%

restante. La mayoría de ellos están compuestos por tejido conjuntivo fibroso (63.51%) pero en el resto existe también infiltrado inflamatorio constituido habitualmente por linfocitos, algunas células plasmáticas y más rara vez por polimorfonucleares. En el 8.10% de los casos este infiltrado inflamatorio es escaso, pero en el 28.37% es abundante.

La **vascularización** de los tumores procede de neovasos dependientes de la circulación arterial y portal que se ramifican y desembocan en canales vasculares de diferente grosor. Habitualmente el número de vasos es semejante al número de capilares del hígado no tumoral; ocurre así en el 66.89% de los casos de nuestra serie. En el 31.11% restante tienen menor cantidad de vasos neoformados que el hígado normal, la mayoría de ellos, tumores con abundante cantidad de estroma.

Una característica común de los tumores primarios de hígado es la presencia de **infiltrados celulares** formados, casi exclusivamente por células inflamatorias y hematíes. Sucede en el 83% de los casos estudiados y se distribuyen en los capilares neoformados (29.7%), en el intersticio (27%), o en ambos lugares (26.3%). Las células encontradas con más frecuencia son los linfocitos, con un 47.3%, seguidos por los polimorfonucleares, con un 5%, los eosinófilos, con un 2% y la mezcla de varias de ellas, en un 30% de los casos.

Además de estos infiltrados, con relativa frecuencia se presentan zonas con hemorragia y extravasación de hematíes, bien focalmente (20.3%), bien en áreas extensas dispersas por todo el tumor (25%).

Los **trombos biliares** se definen como la dilatación y presencia de abundante cantidad de bilis en los canalículos biliares de tal forma que al cortar el tumor para fijar el tejido se disponen a modo de tapones de bilis repartidos en áreas o por todo el tumor. Aparecen en el 31% de los casos y pueden existir también en el hígado no tumoral. Su presencia no es diagnóstica de carcinoma hepatocelular, pues existen colangiocarcinomas, hepato-colangiocarcinomas y hepatoblastomas con trombos biliares en el parénquima hepático no tumoral.

Los tumores hepáticos pueden presentar **depósitos** de diferentes sustancias. En nuestra serie existen en el 37.2% de los tumores y aparecen en todos los tipos tumorales. Su cantidad es variable: encontramos una cantidad leve-moderada en el 18.25% e intensa en un 19% de los casos. Se pueden encontrar en una o varias áreas o bien en todo el tumor, localizadas en las células endoteliales y macrófagos de los capilares neoformados (0.7%); en el intersticio (9%); en los alvéolos tumorales (27.7%). Es frecuente la coexistencia de varias localizaciones.

El tipo de depósito es muy variado. Así, tenemos que el hierro existe en un 6%, situado únicamente en el intersticio, el pigmento biliar en un 12.8%, localizado fundamentalmente en los alvéolos e intersticio y en el 12.8% de los colangiocarcinomas existe moco, localizado casi exclusivamente en los alvéolos. En el 5% de los casos aparece coexistencia de varios depósitos en una o más localizaciones.

Definimos la **angioinvasión** del tumor como la presencia de células tumorales en los vasos sanguíneos localizados en el corte histológico analizado. Exceptuamos los capilares neoformados por

estudiar esta invasión en otro apartado. Estos émbolos tumorales pueden ser de pocas células o formar grupos que ocupan toda la luz del vaso. Pueden descubrirse en arterias o en venas.

En el 88.51% de los casos no existe angioinvasión en los cortes estudiados, mientras que en el 11.48% restante sí la presentan.

El **grado de diferenciación** de los carcinomas hepatocelulares lo hemos establecido de acuerdo con la clasificación de Edmondson, estudiada anteriormente. Así, el 2.30% son de grado I; el 38.46% son de grado II; el 46.15% son de grado III y el 13.07% restante son de grado IV. (figura 16)

En los cortes histológicos en que ha sido posible se ha estudiado el **tejido hepático no tumoral** con las técnicas habituales de tinción con el fin de llegar a un diagnóstico, cuando menos descriptivo, de la patología hepática asociada al tumor. Unas veces estos hallazgos son causa del tumor, por ejemplo la cirrosis hepática, otras es consecuencia, por ejemplo la colostasis, otras veces son situaciones paralelas poco relacionadas, por ejemplo la esteatosis y en otras es normal. Hemos agrupado estos diagnósticos en siete clases:

- 1.- Cirrosis: cuando existe alteración manifiesta de la arquitectura en el tejido no tumoral.
- 2.- Hepatopatía crónica: bien sea activa o persistente.
- 3.- Normal.
- 4.- Colostasis: cuando existe evidencia de dilatación de los canalículos biliares con la presencia de trombos de bilis. Pueden existir inclusiones intracitoplásmicas de bilis en los hepatocitos.

- 5.- No existe suficiente cantidad de tejido no tumoral como para llegar a un diagnóstico.
- 6.- Esteatosis: cuando aparecen vacuolas de grasa en el citoplasma de los hepatocitos no tumorales.
- 7.- Depósito de hierro: existen depósitos de hemosiderina en el citoplasma y/o en el intersticio del tejido no tumoral. En algunos casos existe una hemocromatosis, pero la mayoría de los casos son hemosiderosis.

Según esto, el 20.40% de los tumores primarios de hígado se acompañan de cirrosis hepática; el 6.12% lo hacen de hepatopatía crónica; el 3.40% de los casos el tejido hepático no tumoral es normal; en el 12.24% existe colostasis; en el 47.61% no hay suficiente cantidad de tejido no tumoral; en el 5.44% hay esteatosis y en el 4.77% restante existe depósito de hierro. (figura 17)

B. CARACTERISTICAS CITOPATOLOGICAS

La mayoría de los tumores primitivos de hígado tienen un único tipo celular con un mismo grado de diferenciación en todas las áreas del tumor. La excepción la presentan los hepatocolangiocarcinomas, por definición, algunos hepatoblastomas que puedan presentar mezcla de hepatocitos fetales y embrionarios y los carcinosarcomas, también por definición. En algunos hepatocarcinomas pueden coexistir dos o más áreas de distinto grado de diferenciación con hepatocitos de diferentes características.

En nuestra serie describimos dos **tipos celulares** en 29 casos (19.6%), y estudiamos las características de cada tipo celular. Los resultados obtenidos los exponemos a continuación.

La **forma** de la célula tumoral es cuboide en todos los casos excepto en tres, el 2% del total, independientemente del tipo tumoral o grado de diferenciación. Los tumores de células alargadas eran hepatocarcinomas de grado IV.

Su **tamaño** es variable y lo hemos graduado en pequeño, mediano y grande, considerando mediano el tamaño del hepatocito normal no tumoral. De este modo obtuvimos que el 14.2% de los tumores tienen células pequeñas; el 79% tienen células medianas y el 6.75% tienen células grandes. En los tres tipos pueden coexistir células tumorales gigantes, habitualmente multinucleadas, entremezcladas en el tejido neoplásico, así como mezcla de células de varios tamaños. (figura 18)

CITOPLASMA: hemos estudiado varias características del citoplasma de las células neoplásicas comparándolo con el de los hepatocitos normales.

La **cantidad** de citoplasma la hemos dividido en tres grupos: abundante (4.1%), medio (50.7%) y escaso (45.2%).

El citoplasma es granular en el 93.2% de los casos y homogéneo en toda la célula en un 6.8%; de apetencia tintorial eosinófila leve, en el 36.5%, media en el 19% y PAS-positivo en un 44.6% .

Su **contenido** es muy variable y no son raros los depósitos de varias sustancias. Con la técnica de hematoxilina-eosina encontramos el contenido siguiente: En un caso existía citoplasma esmerilado que coincidió con la positividad a la orceína

y AgHBs. En otro fue evidente la presencia de hialina de Mallory. El 16.2% presentaba grasa en el citoplasma en forma de vacuolas múltiples o única ocupándolo enteramente. En el 23.65% de los casos era posible demostrar la presencia de bilis en el citoplasma de varios hepatocitos tumorales. Menos frecuente eran las inclusiones de hierro, el 2.7% y cuerpos hialinos, el 2%. Lo más frecuente es la existencia de varias sustancias en la misma o diferentes células, sobre todo grasa y bilis. (figura 19)

NUCLEO: en su estudio también hemos tomado como valor de referencia el núcleo de los hepatocitos normales y hemos valorado su tamaño, número y disposición de la cromatina.

El **tamaño** nuclear de las células neoplásicas es, habitualmente, semejante al de los hepatocitos no tumorales, en el 60% de los casos de nuestra serie. El resto, un 39.1%, presenta el núcleo grande.

Para valorar el **número** de núcleos por célula tumoral, hemos estudiado seis campos de mediano aumento. En la primera situación se encuentran el 4.73% de los casos, mientras que en la segunda está el 95.27% restante.

La **cromatina** de los núcleos de células neoplásicas se reparte de dos maneras diferentes. En unos casos se sitúa periféricamente adyacente a la cara interna de la membrana nuclear, dejando el centro vacío. En otros casos ocupa todo el núcleo de forma homogénea. Habitualmente estos dos patrones son comunes a todas o casi todas las células tumorales, pero existen casos en que existen ambos en el mismo tumor con un sólo tipo celular. En nuestro estudio, todos los tipos de tumores

presentan ambos modos de distribución de la cromatina, aunque en el colangiocarcinoma la distribución homogénea es mucho más frecuente. El 51.71% de los tumores tienen la cromatina distribuida periféricamente, mientras que el 48.29% la presentan homogéneamente repartida.

NUCLEOLO: en el nucleolo de las células neoplásicas hemos estudiado cuatro características: localización, tamaño, número y apetencia tintorial.

Su **localización** dentro del núcleo la hemos dividido en lateralizado, si está próximo a la membrana nuclear, y central. La primera situación la ocupan el 60.54% de los casos, mientras que la segunda aparece en el 39.54% restante.

El **tamaño** del nucleolo puede ser grande, mediano o pequeño, en relación al tamaño del nucleolo de un hepatocito normal. El 81.08% de los tumores de nuestra serie tienen el nucleolo mediano, mientras que en el 12.83% es grande y en el 6.08% pequeño.

El **número** de nucleolos lo hemos dividido entre único y múltiple. El 77.02% de los casos tienen un nucleolo único, mientras que el 22.97% restante presentan un número variable.

Con la técnica habitual de hematoxilina-eosina, su **apetencia tintorial**, es mayoritariamente basófila, un 90.54% de los casos. El resto son acidófilos. Debemos resaltar que la distribución de la cromatina puede ocultar el nucleolo y alterar la visión de su coloración.

De los 148 tumores primarios de hígado estudiados, hemos descrito 29 casos en los que existen dos **tipos celulares** diferentes. De estos 29, dos son hepatoblastomas, tres son hepatocoloangiocarcinomas, uno colangiocarcinoma y veintitrés son hepatocarcinomas. Hemos analizado las características de este segundo tipo celular por separado en cada grupo excepto en el colangiocarcinoma, que no lo hemos hecho por insuficiencia de la muestra. En todos ellos, la célula predominante es la que hemos estudiado junto al resto de características y el segundo tipo celular es el que estudiamos ahora. (figura 20)

En los HEPATOCARCINOMAS, veintitrés tumores tienen un segundo tipo celular. Su forma es mayoritariamente cuboide, con un 82.60% de los casos. El resto son células alargadas. Su tamaño suele ser mediano, un 51.72%, aunque en seis casos, el 20.69%, es grande. Sólo en un caso es de tamaño gigante.

Su citoplasma es escaso en el 62.07% de los casos, abundante en el 20.69% y medio en el 17.24% restante; granular en la mayoría, 89.66% y homogéneo en el 10.34% restante. En dos casos el citoplasma es PAS-positivo, el 6.90%.

El contenido del citoplasma no es tan variado como en el otro tipo celular. En el 6.90% de los casos existen vacuolas de grasa; en el 13.79% se encuentra pigmento biliar y en un caso se encuentran ambos. En el resto de los casos no existe contenido diferente alguno.

El tamaño del núcleo es grande en la mitad de los casos y mediano en la otra mitad. Suele ser único (82.76%), aunque en el 17.24% existen varios núcleos. La cromatina se reparte homogénea-

mente en el 75.86% de los casos y de forma periférica en el otro 24.14%.

En cuanto al nucleolo, lo habitual es que esté situado central en el núcleo, quedando lateralizado en el 24.14% de los casos. Su tamaño suele ser mediano, aunque en el 20.69% de los casos es grande y en otro 20.69% es pequeño. Lo encontramos único en la inmensa mayoría de muestras, 89.66%, y basófilo en el 82.76%. El resto son acidófilos.

En los HEPATOBLASTOMAS, de los tres casos diagnosticados en este hospital y en este periodo de tiempo, dos de ellos tienen dos tipos celulares de diferentes características. Un tipo, el más abundante, ha sido incluido en el estudio general, mientras que el otro, lo analizamos a continuación. Es una célula pequeña, alargada, con escaso citoplasma granular y levemente eosinófilo. No tiene inclusiones citoplásmicas específicas. Su núcleo es mediano o grande, único y con la cromatina repartida periféricamente bajo la membrana nuclear u homogéneamente. El nucleolo es único, basófilo, mediano o pequeño y generalmente central. Posee las mismas relaciones que en los hepatocarcinomas.

3. INMUNOHISTOQUIMICA

Hemos llevado a cabo un estudio inmunohistoquímico en 67 casos, de los que 57 son hepatocarcinomas, cuatro son colangiocarcinomas, tres son tumores combinados y tres son hepatoblastomas. En cada caso hemos utilizado los anticuerpos primarios contra los antígenos AgHBs, AgHBc, CEA, A1AT y Alfa-fetoproteína.

Los resultados obtenidos se exponen a continuación (tabla XII).

Todos los datos obtenidos se refieren a células neoplásicas excepto los que se especifican expresamente como de otra localización.

TABLA XII. Resultados inmunohistoquímicos.

TUMOR	ANTIGENO											
	AgHBs		AgHBc		CEA			AlAT		AFETO		
	+	-	+	-	+c	+	-	+	-	+	-	
Hepatocarcinoma	5	52	2	55	21	26	10	36	21	35	22	
Colangiocarcinoma	0	4	0	4	0	4	0	3	1	0	4	
T. Combinado	1	2	0	3	2	1	0	2	1	2	1	
Hepatoblastoma	0	3	0	3	0	3	0	3	0	2	1	

TOTAL ... 67	6	61	2	65	23	34	10	44	23	40	27	

A. AgHBs:

Hemos encontrado la positividad a este marcador en seis casos (8.95%), cinco de ellos son hepatocarcinomas, (el 8.7% de los hepatocarcinomas), y uno es un hepatocolangiocarcinoma, (un 20% de los hepatocolangiocarcinomas).

Considerando que la positividad del caso del tumor combinado es en el componente hepatocelular, podemos afirmar que el 10% de los carcinomas hepatocelulares presentan positividad a este antígeno. (figura 21)

En el 31.3% de los casos, el AgHBs es positivo en el citoplasma de los hepatocitos no tumorales y lo hace adoptando un patrón difuso en áreas.

En todos ellos se localiza en el citoplasma de los hepatocitos. El estudio inmunohistoquímico de estos casos es el siguiente:

	AgHBs	AgHBc	CEA	AlAT	AFETO
Caso nº 1	+	-	-	-	+
Caso nº 2	+	-	+	+	-
Caso nº 3	+	+	+	+	+
Caso nº 4	+	-	-	-	+
Caso nº 5	+	-	+	-	-

B. AgHBc:

Se ha evidenciado positividad a este marcador en dos casos, el 2.98% de los tumores primarios de hígado, ambos hepatocarcinomas, el 3.5% de ellos. (figura 22)

Se localiza en el núcleo de los hepatocitos neoplásicos formando un punteado granular fino. No se ha demostrado en el citoplasma ni en la membrana celular.

El estudio inmunohistoquímico de estos dos casos es el siguiente:

	AgHBc	AgHBs	CEA	AlAT	AFETO
Caso nº 1	+	-	-	+	-
Caso nº 2	+	+	+	+	+

En el caso no.1 destaca la negatividad del antígeno de superficie de la hepatitis B.

C. CEA:

De los 67 casos estudiados, hemos hallado positividad del antígeno carcinoembrionario en 57 casos, es decir, en el 85.07% de los tumores primarios de hígado. De ellos, 23 casos presentan patrón canalicular, lo que representa un 35.7% de todos los tumores y un 43.8% de los casos positivos.

Por tumores hemos encontrado que 47 hepatocarcinomas son positivos al CEA, un 82.45% de ellos, de los que 21 presentan el patrón canalicular, un 36.84% de los todos hepatocarcinomas y un 44.68% de los hepatocarcinomas positivos. Veintiseis casos son positivos sin presentar el patrón canalicular, es decir, el 45.61% de estos tumores y el 55.31% de los carcinomas hepatocelulares positivos al CEA. Diez casos no se tiñen con este suero primario, lo que supone un 17.54%.(figura 23)

La localización del antígeno carcinoembrionario es diferente en unos casos y otros. En 21 casos se dispone siguiendo un patrón canalicular distorsionado formado por cilindros alargados e irregulares situados en el glicocálix de los hepatocitos

neoplásicos y manchas redondeadas e irregulares, en algunos casos bien definidas, situadas entre dos o más hepatocitos tumorales. Este patrón suele existir en varias áreas de un tumor. En ningún caso se distribuye por toda la neoplasia.

En nuestra serie, el patrón canalicular tiene una sensibilidad del 36.84% y una especificidad del 85.71%. Si consideramos que la positividad con patrón canalicular de los hepatocolangiocarcinomas es en el componente hepatocelular, la sensibilidad del patrón canalicular en el diagnóstico de carcinoma hepatocelular es del 40.35% y su especificidad del 100%, en nuestra serie.

En los 26 casos positivos pero sin adoptar un patrón canalicular, el antígeno CEA se distribuye a lo largo de la membrana celular, fundamentalmente en el polo biliar. Suelen teñirse extensas áreas tumorales, aunque ocasionalmente son células sueltas las que presentan la positividad.

En los colangiocarcinomas hemos encontrado que los cuatro casos estudiados son positivos al CEA. Aquí el antígeno se localiza en el citoplasma de las células tumorales repartido de forma homogénea por todo él y en la membrana celular. No adopta ningún patrón característico.

De los cinco hepatocolangiocarcinomas de la serie, hemos llevado a cabo un estudio inmunohistoquímico en tres. En todos ellos el CEA es positivo. En dos adopta un patrón canalicular, localizado exclusivamente en el componente hepatocelular del tumor. El otro caso es positivo sin este patrón.

Los tres hepatoblastomas son positivos al CEA, sensibilidad del 100%. No adopta el patrón canalicular.

D. ALFA-1-ANTITRIPSINA:

La positividad a esta técnica ha sido demostrada en 44 casos, el 65.67%. De ellos 36 son hepatocarcinomas, lo que supone el 53.73% del total y el 63.15% de los hepatocarcinomas. Tres de los cuatro colangiocarcinomas son positivos a la A1AT, el 75% de ellos; dos de los tres tumores mixtos en los que se realizó inmunohistoquímica son positivos así como todos los hepatoblastomas (figura 24).

Este antígeno se localiza en el citoplasma de las células neoplásicas a modo de fino granulado en una o más áreas tumorales. No guarda ningún patrón específico.

E. ALFA-FETOPROTEINA:

Utilizando los anticuerpos anti-alfa-fetoproteína hemos obtenido positividad para esta técnica en 40 casos, el 57.81%.

Según la clasificación de los tumores primarios de hígado, 35 de los 57 hepatocarcinomas son positivos, lo que representa un 52.23% del total y un 61.4% de los hepatocarcinomas. En los colangiocarcinomas ninguno de los cuatro casos se tiñe con esta técnica, mientras que en los tumores mixtos dos de tres lo hacen y dos de tres hepatoblastomas también. (figura 25)

Se presenta como un fino granulado intracitoplásmico, homogéneo, localizado en varias células de un área o dispersas por todo el tumor.

No existe ningún patrón específico en la distribución de la alfa-fetoproteína en las células neoplásicas.

4. ESTUDIO ESTADISTICO

Los resultados obtenidos en el tratamiento estadístico de las variables se han presentado en tablas y gráficos.

Los datos de filiación, síntomas, exploración física y resultados analíticos han sido expuestos en las tablas 8, 9, 10 y 11 y en las figuras 11, 12, 13 y 14.

Los resultados morfológicos han quedado reflejados en las figuras 15, 16, 17, 18, 19 y 20 y los inmunohistoquímicos en las figuras 21, 22, 23, 24 y 25.

Hemos relacionado las variables clínicas con la clasificación de los tumores primarios de hígado, arquitectura, grado de diferenciación e histopatología del tejido hepático no tumoral sin encontrar ninguna diferencia significativa (figuras 29, 30 y 31).

Asimismo, relacionamos diversas variables morfológicas entre sí (figuras 27, 28, 32 y 33), encontrando significación estadística ($p < 0.05$) en la relación existente entre la presencia de dos tipos celulares y el grado de diferenciación de los hepatocarcinomas.

Para tratar los datos inmunohistoquímicos los relacionamos entre sí (figuras 37 y 38), con las variables morfológicas (figuras 34, 35, 36 y 37) y con las clínicas (figura 26).

Obtuvimos una diferencia estadísticamente significativa entre el antígeno carcinoembrionario y el grado de eosinofilia ($p < 0.01$), entre la alfa-1-antitripsina y el CEA ($p < 0.05$) y entre la alfa-fetoproteína y el CEA ($p < 0.05$).

En las relaciones en las que no existían diferencias significativas, analizamos la tabla de frecuencias, que discutimos a continuación.

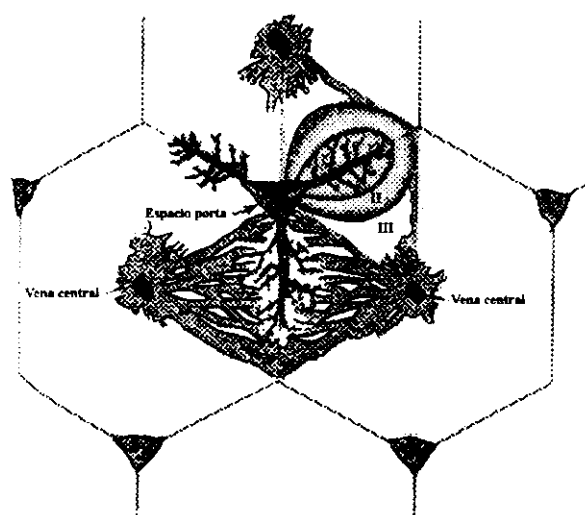


Figura 1.- Arquitectura del acino hepático.

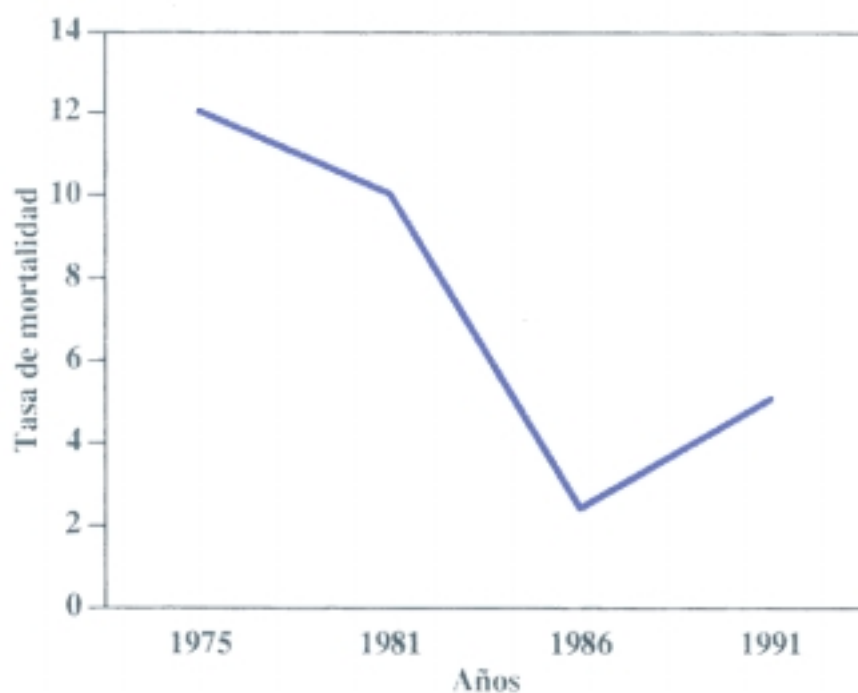


Figura 2.- Tasas de mortalidad por tumores hepáticos primarios

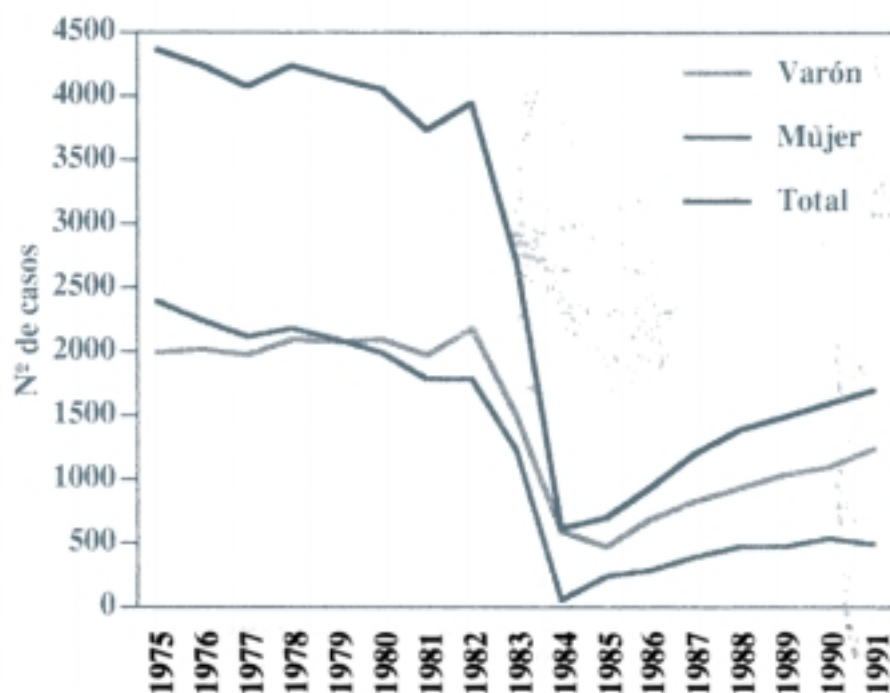


Figura 3.- Defunciones por hepatocarcinoma.

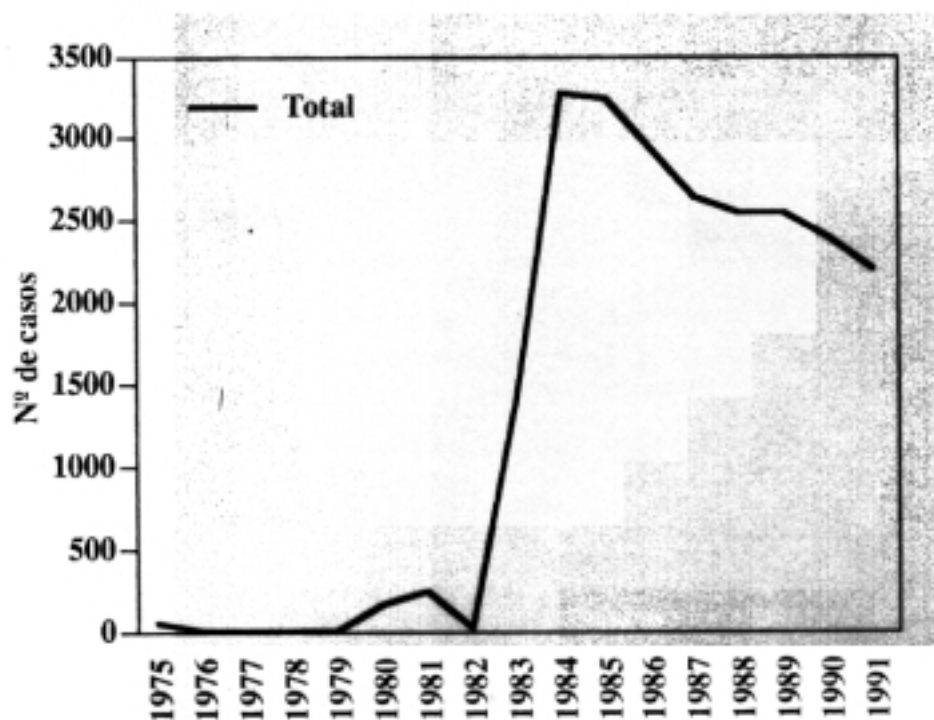


Figura 4.- Defunciones por tumor hepático no especificado como primario o secundario.

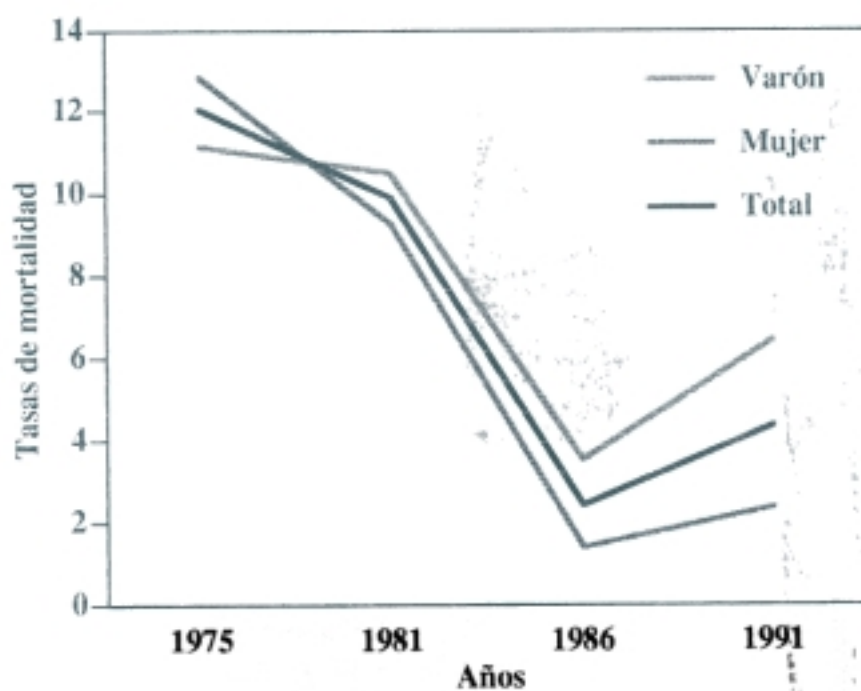


Figura 5.- Tasas de mortalidad por hepatocarcinoma.

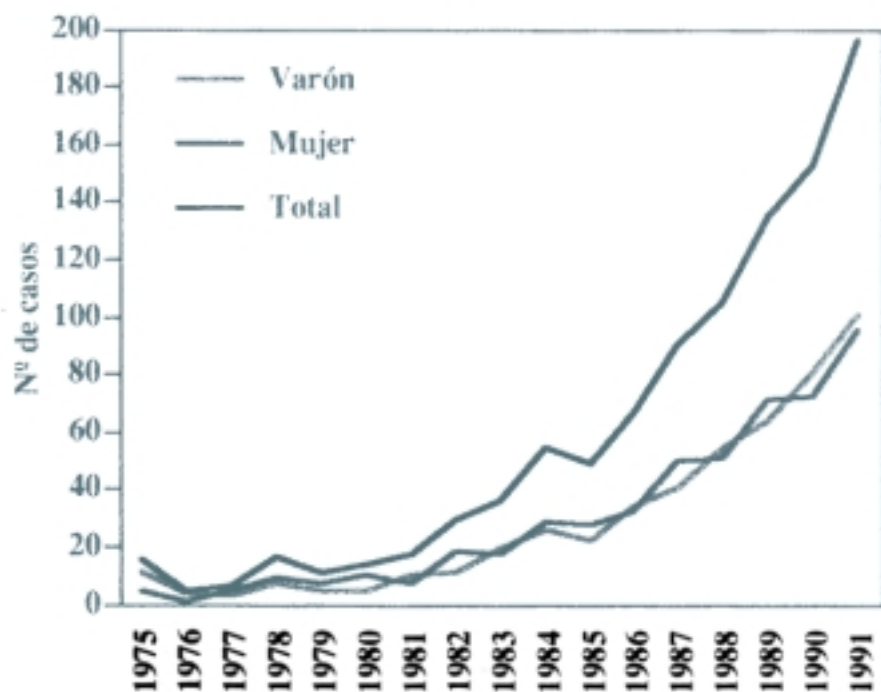


Figura 6.- Defunciones por colangiocarcinoma

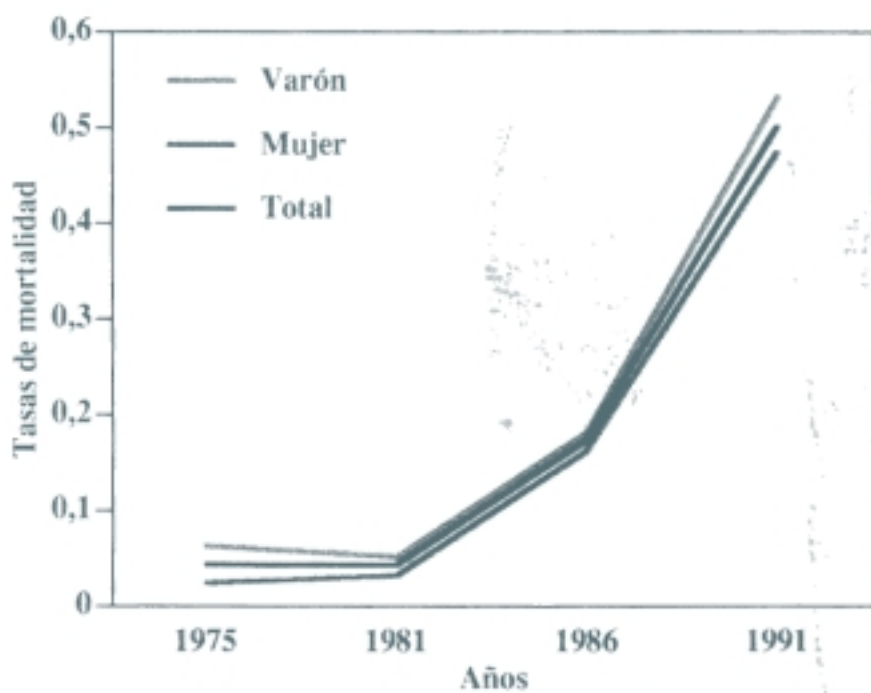


Figura 7.- Tasas de mortalidad por colangiocarcinoma.

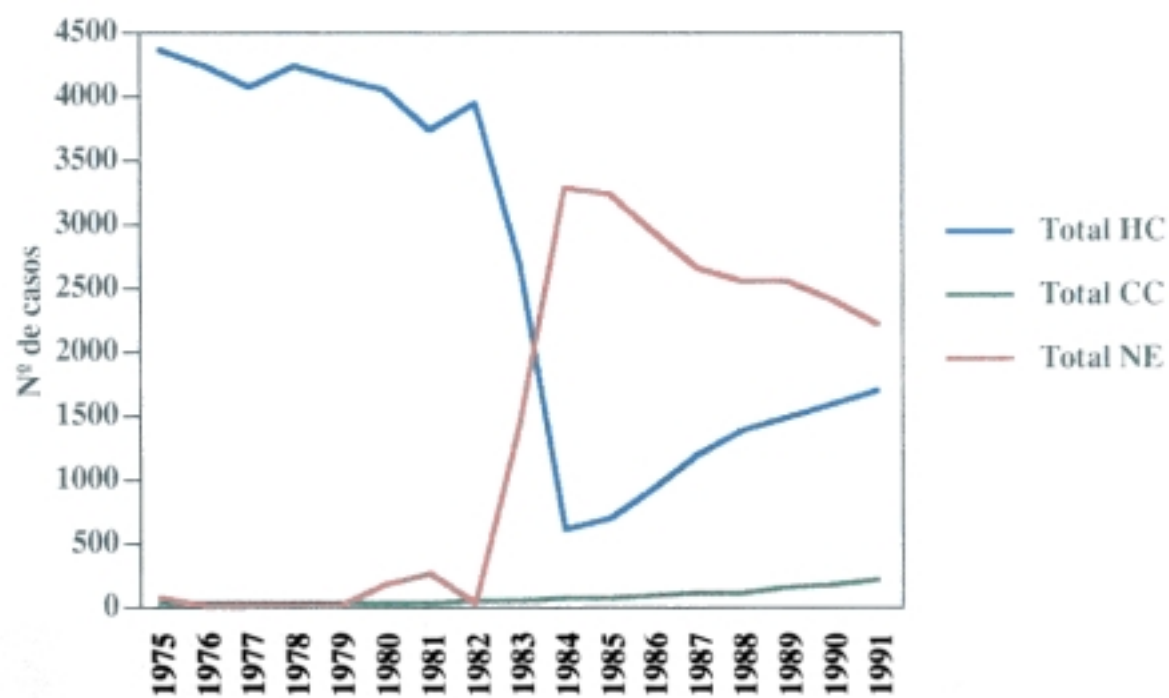


Figura 8.- Defunciones por tumor hepático primario

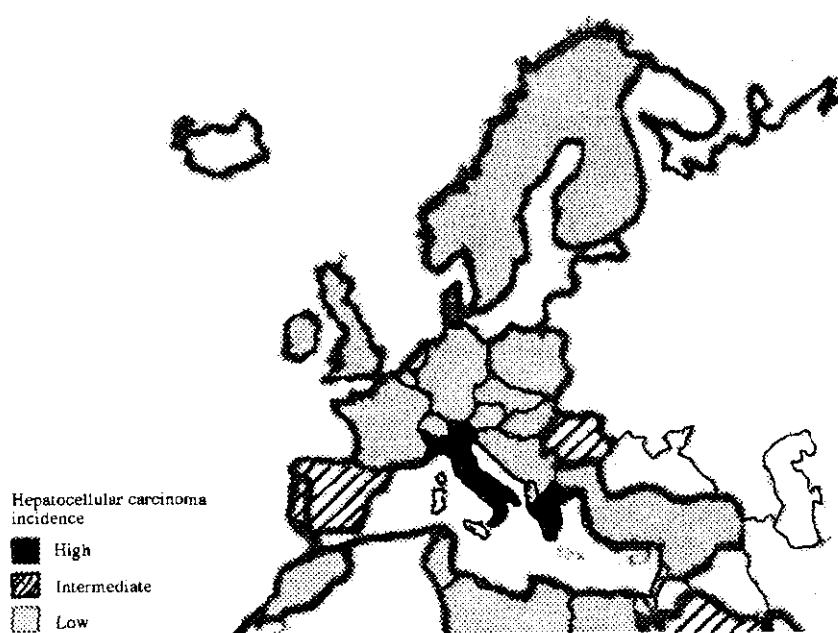
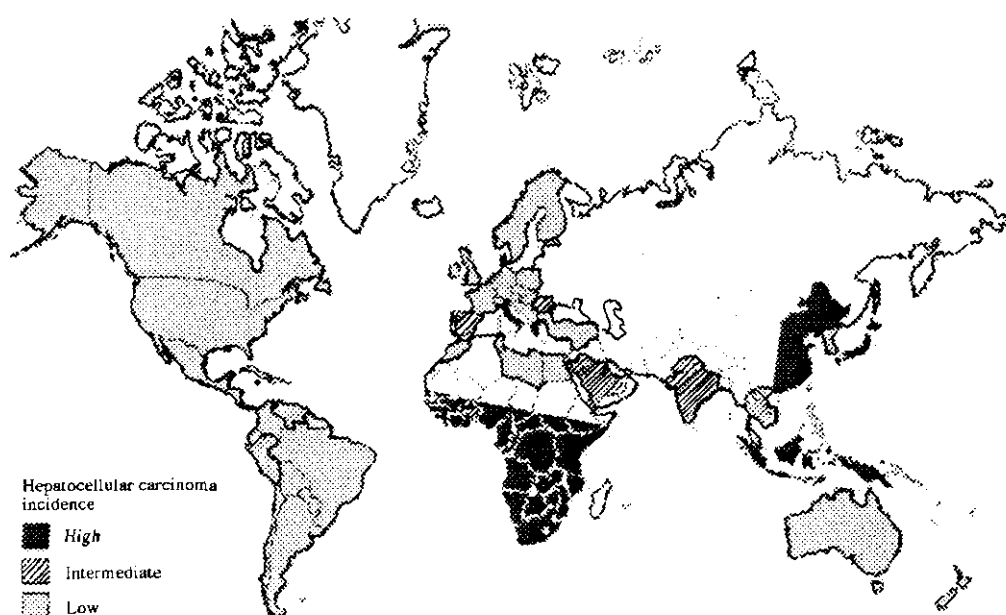


Figura 9. Distribución geográfica del carcinoma hepatocelular

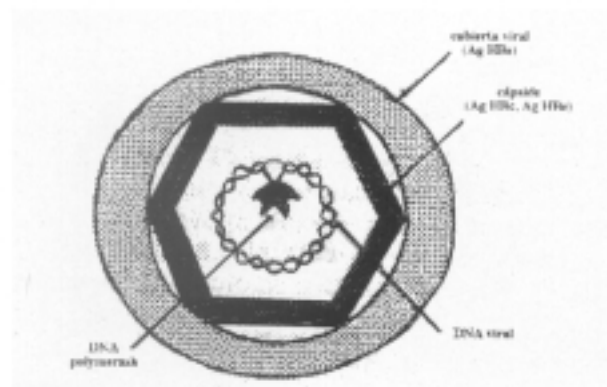


Figura 10.- Estructura del virus B de la hepatitis.

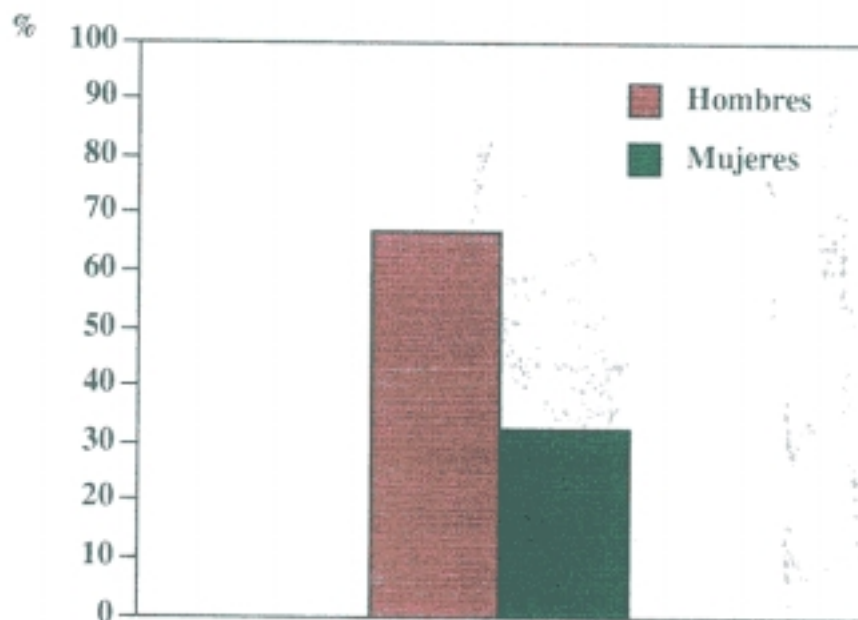


Figura 11.- Distribución por sexo de los tumores hepáticos primarios.

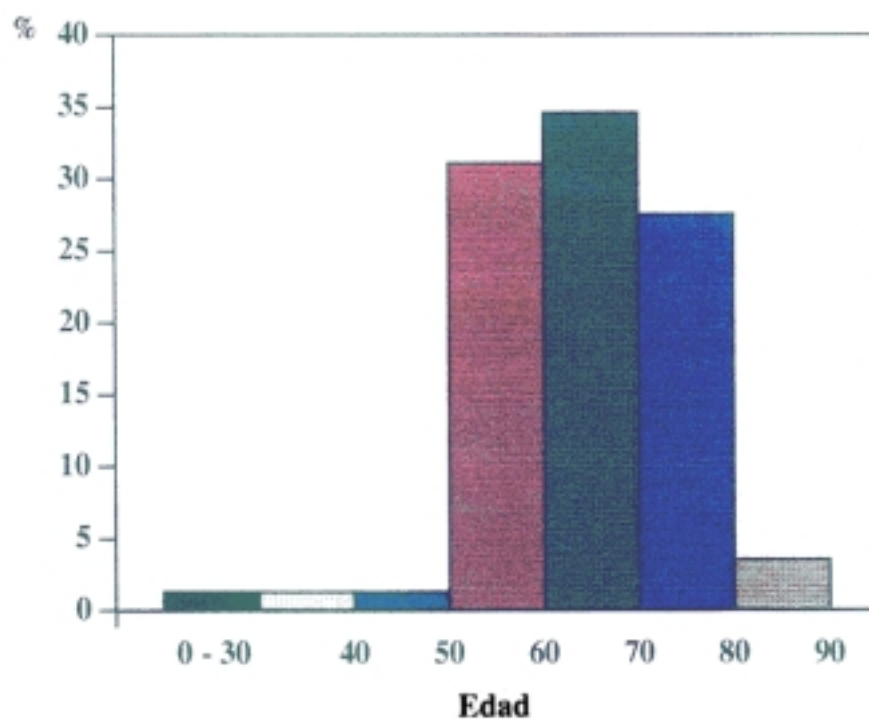


Figura 12.- Distribución por edad de los tumores primarios de hígado.

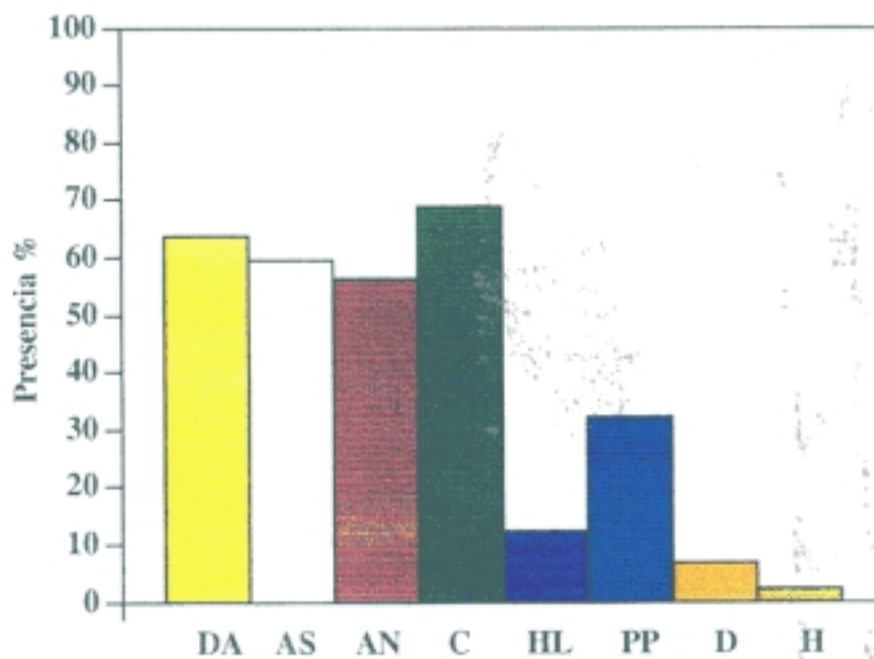


Figura 13.- Signos y síntomas de los tumores hepáticos primarios.

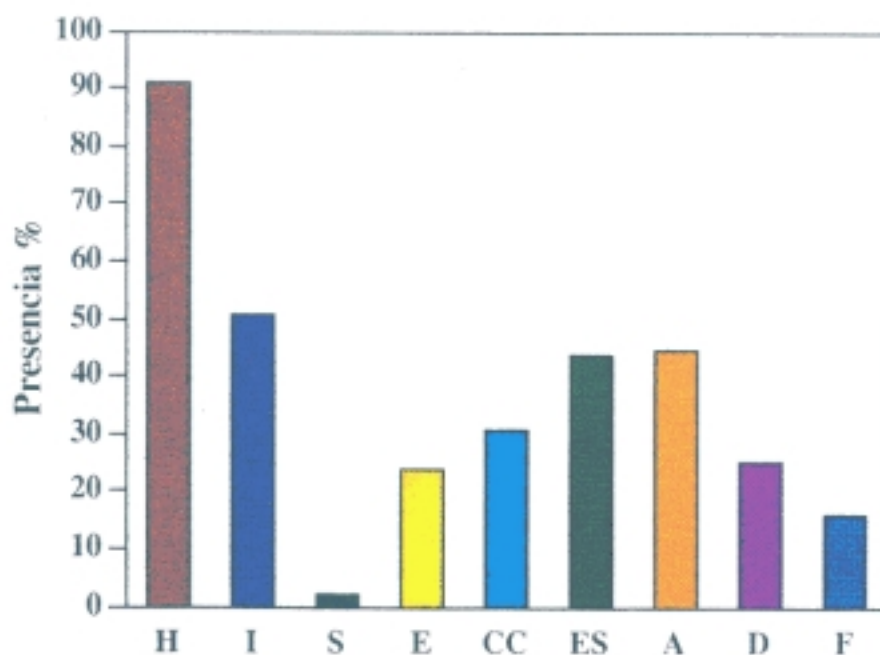


Figura 14.- Resultados de la exploración física de los tumores primarios de hígado.

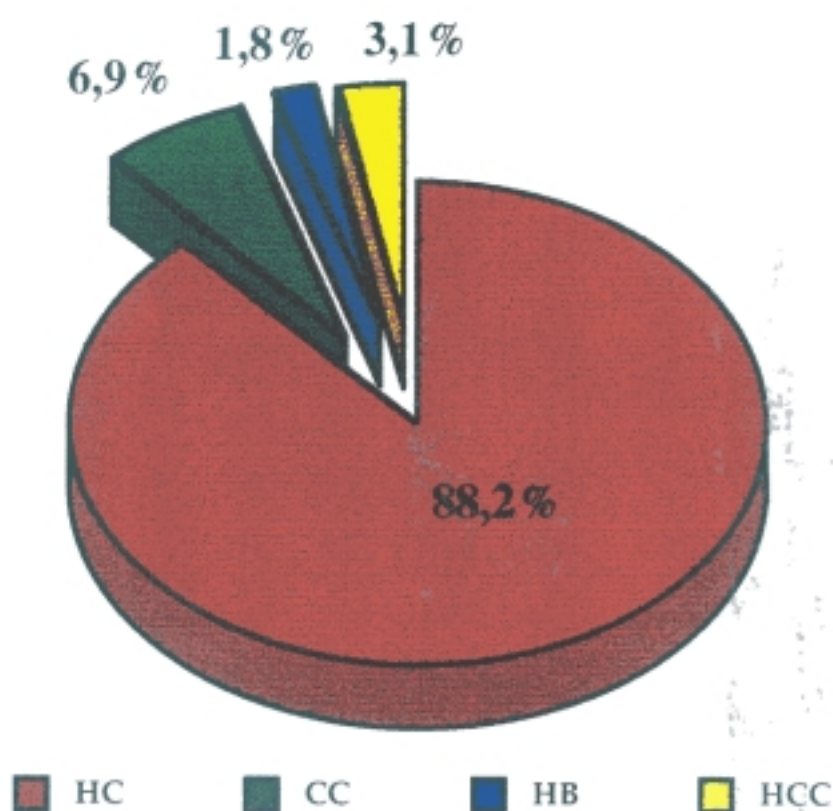


Figura 15.- Clasificación de los tumores hepáticos primarios

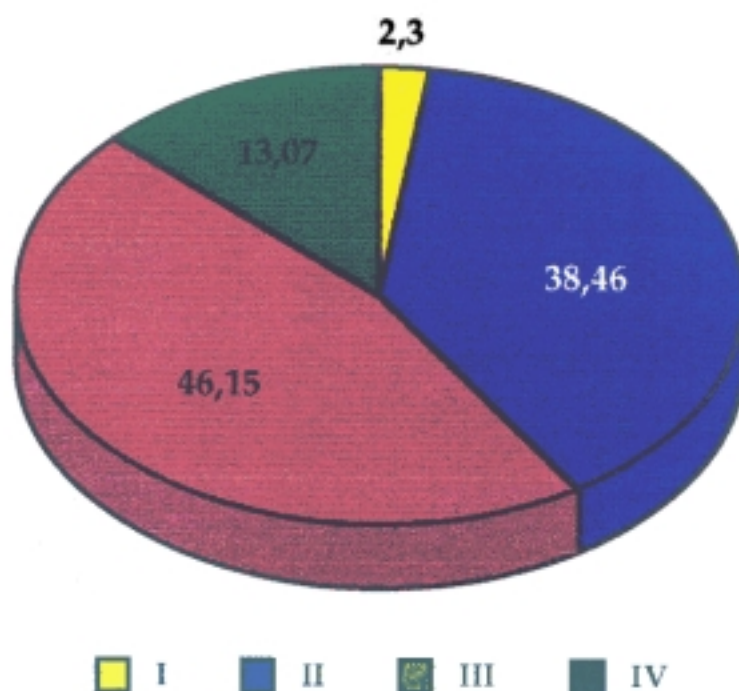


Figura 16.- Distribución por grado de diferenciación de los tumores primarios de hígado.

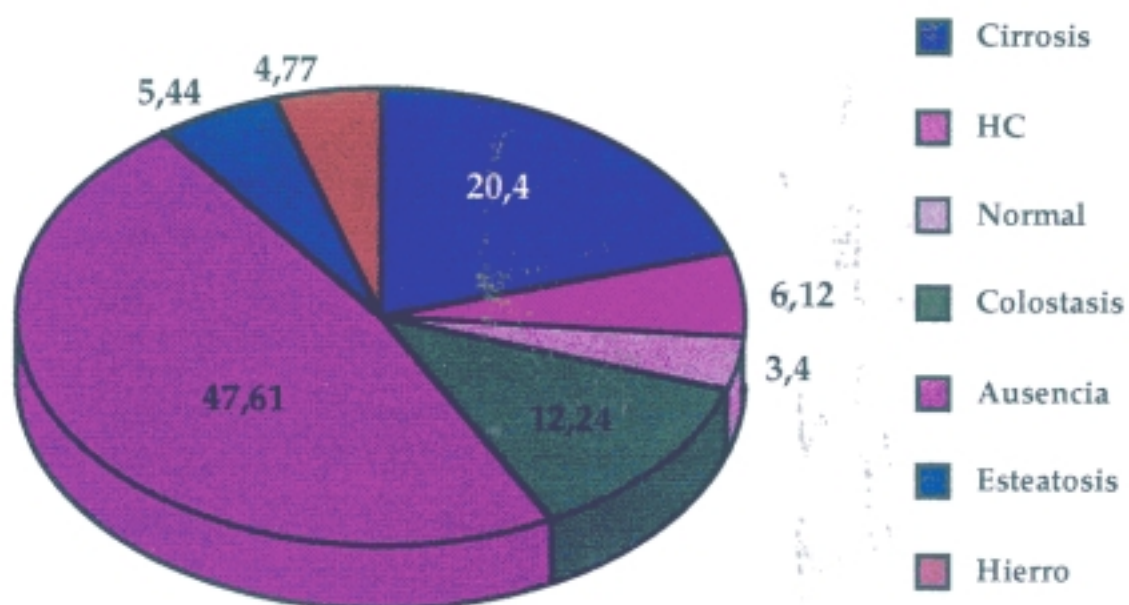


Figura 17.- Histopatología del tejido hepático no tumoral.

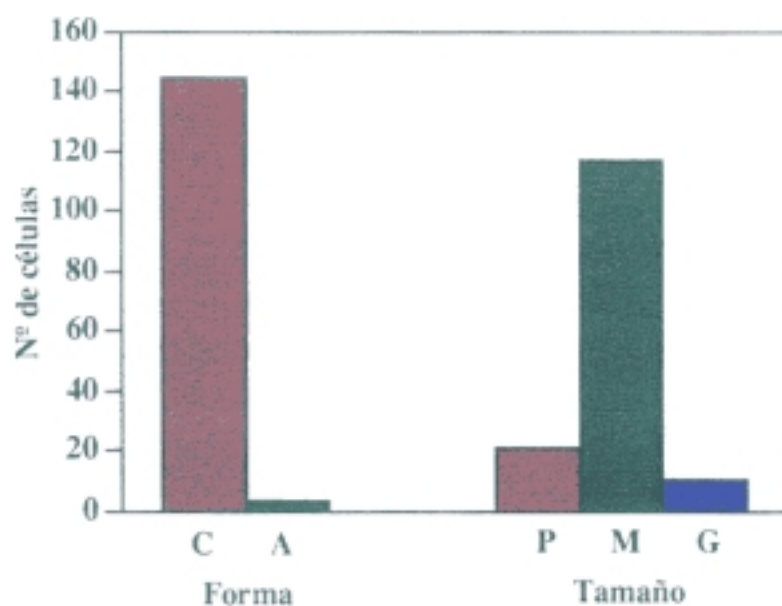


Figura 18.- Citopatología de los tumores hepáticos primarios: forma y tamaño.

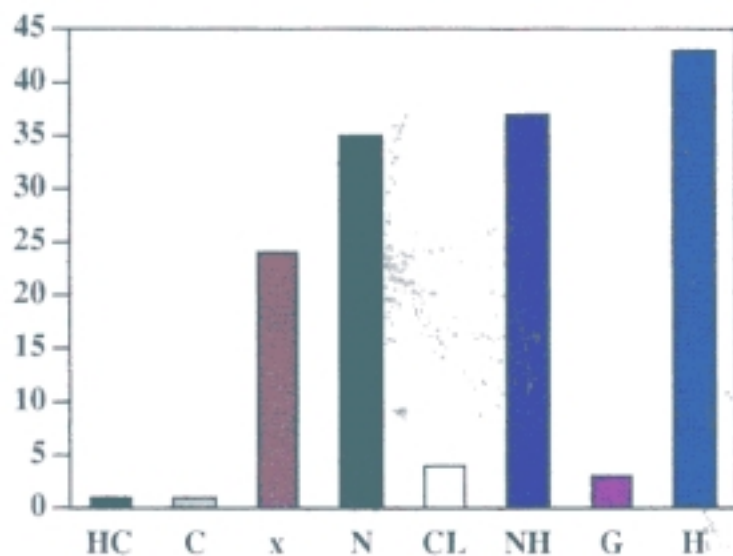


Figura 19.- Contenido celular de los tumores primarios de hígado.

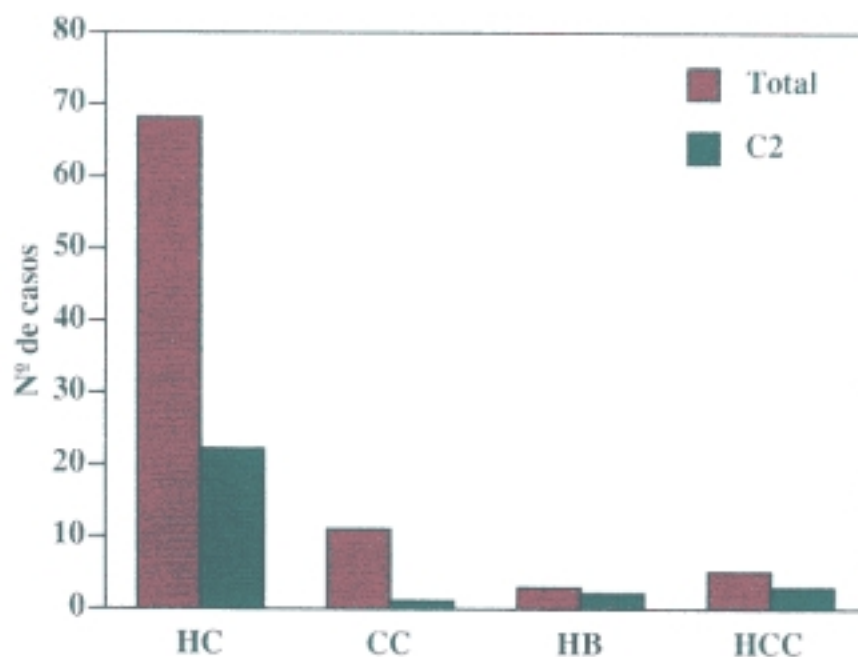


Figura 20.- Existencia de dos tipos celulares neoplásicos según la clasificación de los tumores primarios de hígado.

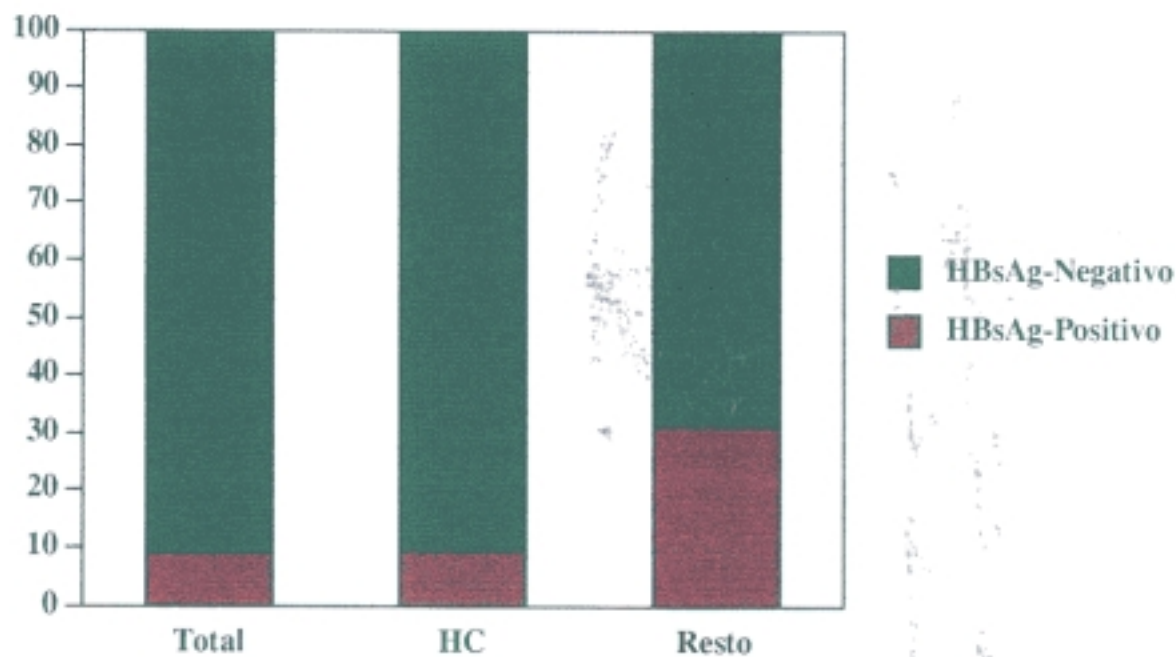


Figura 21.- Distribución del HBsAg en los tumores primarios de hígado.

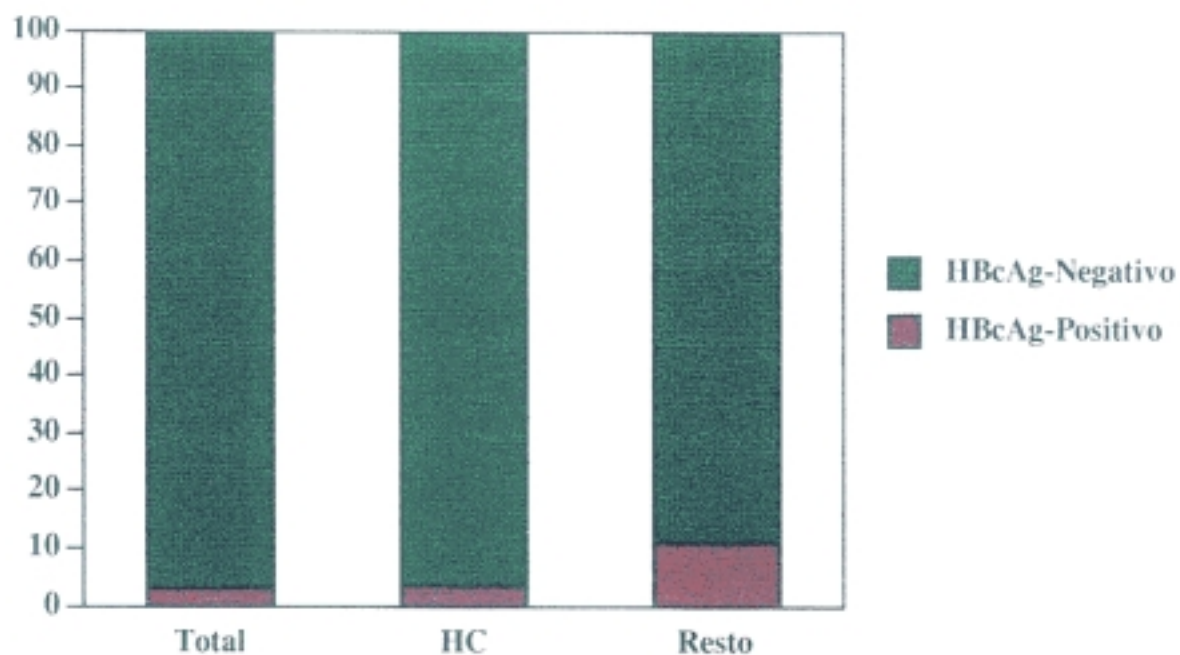


Figura 22.- Distribución del HBcAg en los tumores primarios de hígado.

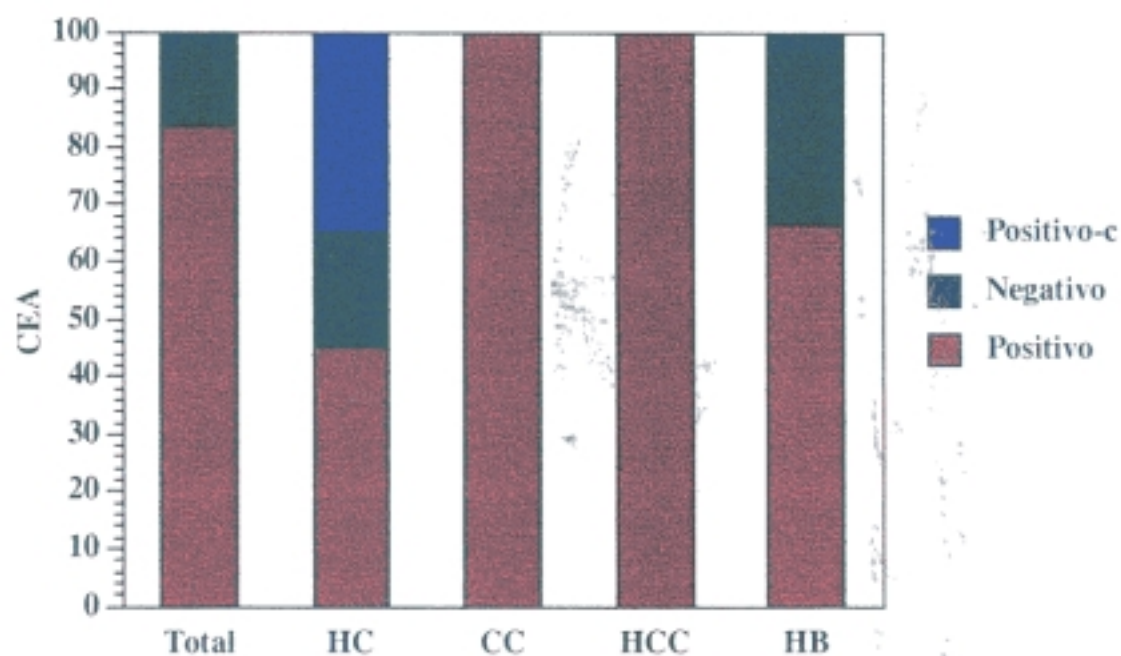


Figura 23.- Distribución del CEA en los tumores primarios de hígado.

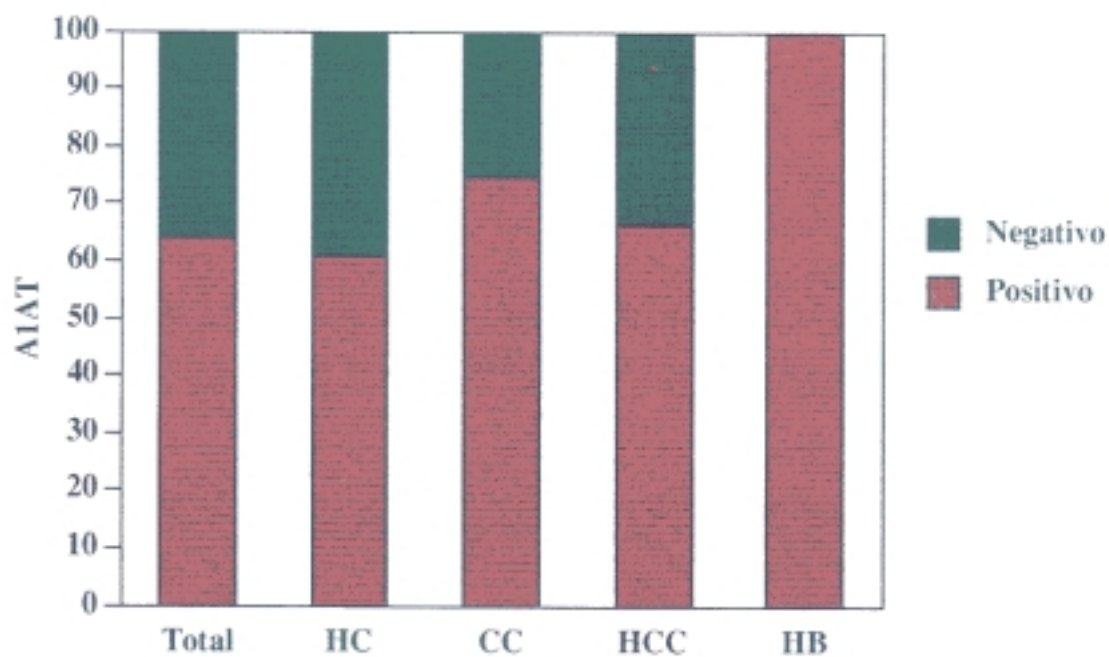


Figura 24.- Distribución de la AIAT en los tumores primarios de hígado.

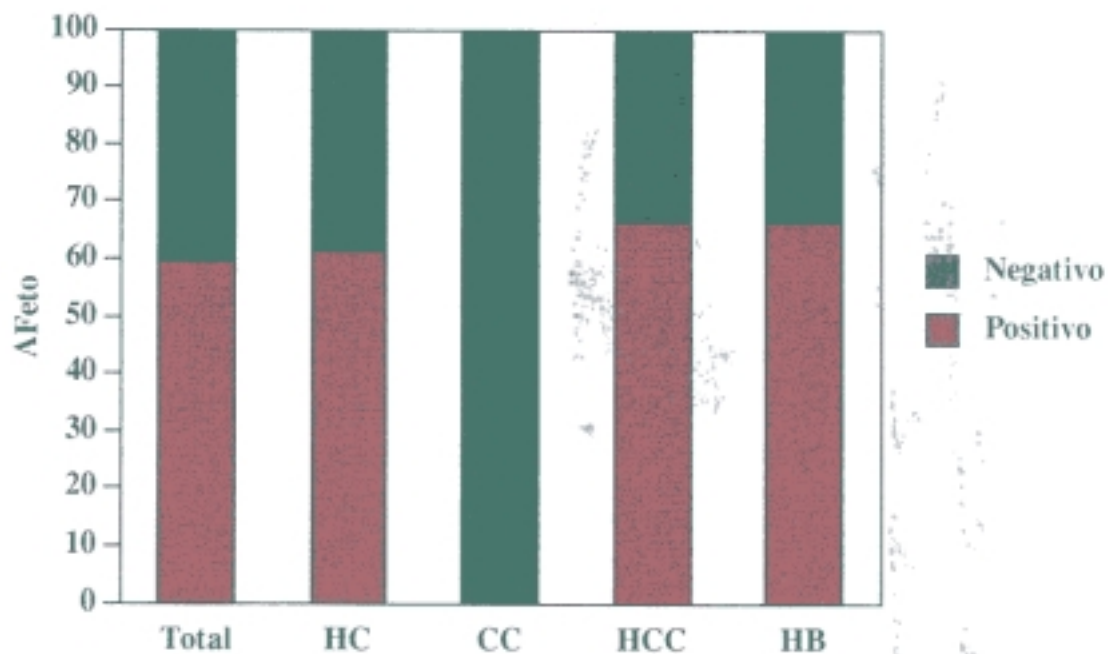


Figura 25.- Distribución de la AFETO en los tumores primarios de hígado.

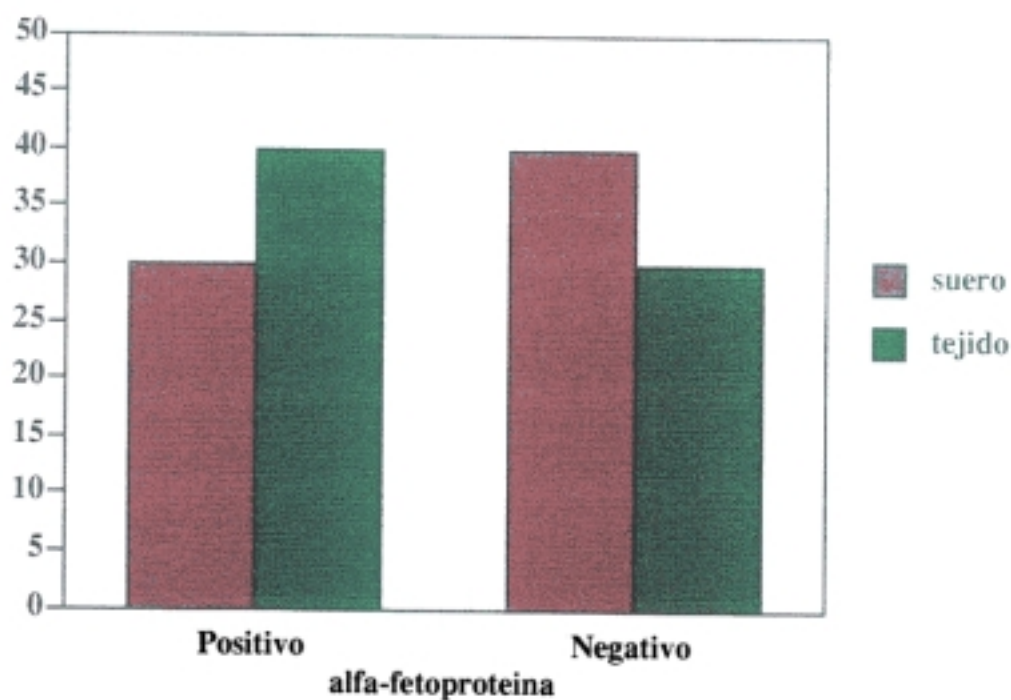


Figura 26.- Relación entre la AFETO sérica y la AFETO tisular

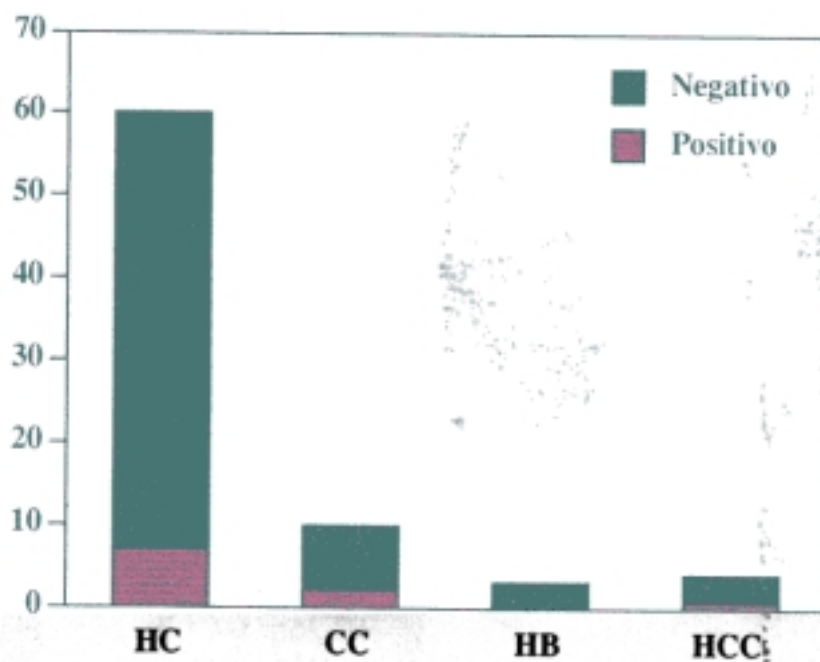


Figura 27.- Relación entre el tipo de tumor primario de hígado y el HBsAg tisular.

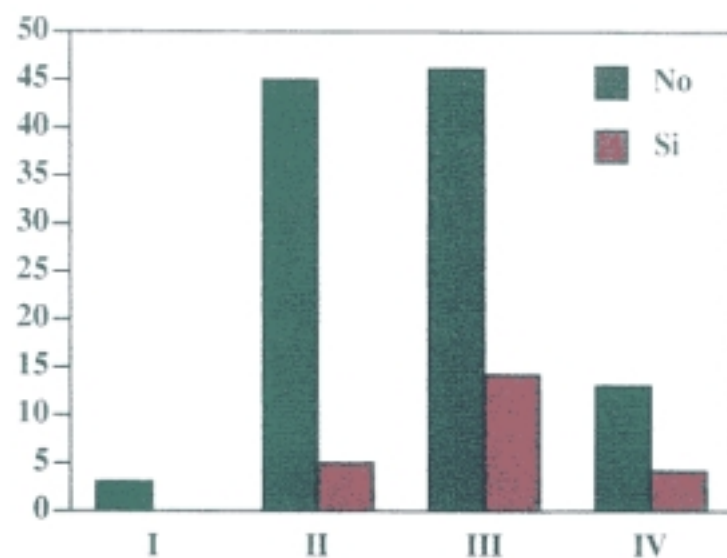


Figura 28.- Relación entre el grado de diferenciación y la presencia de un segundo tipo celular en los hepatocarcinomas.

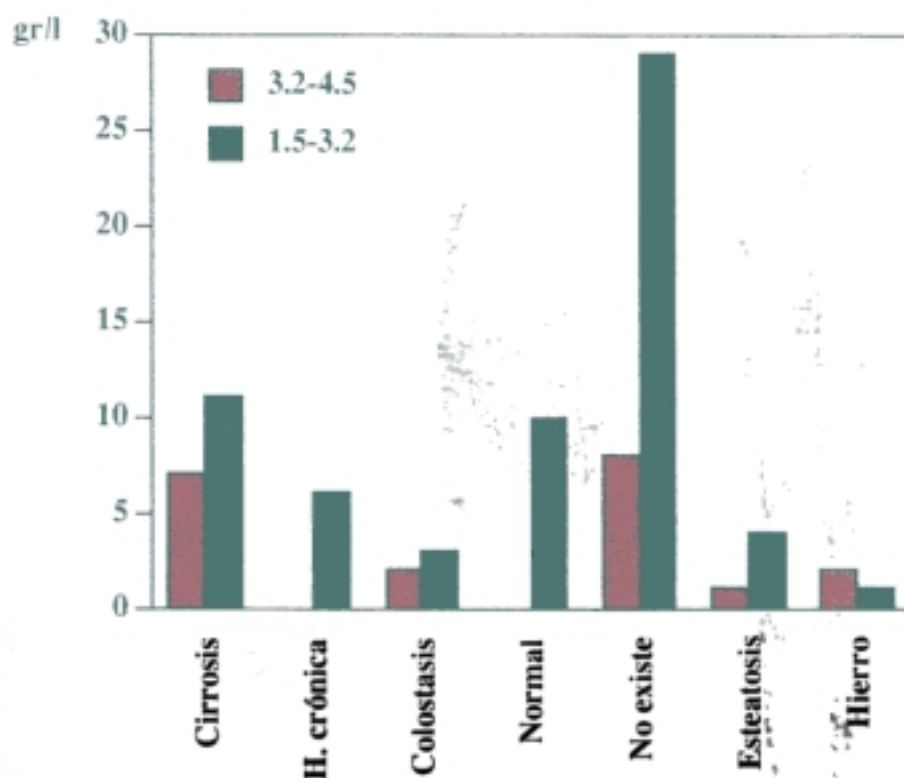


Figura 29.- Relación entre los niveles de albúmina y la histopatología del tejido hepático no tumoral.

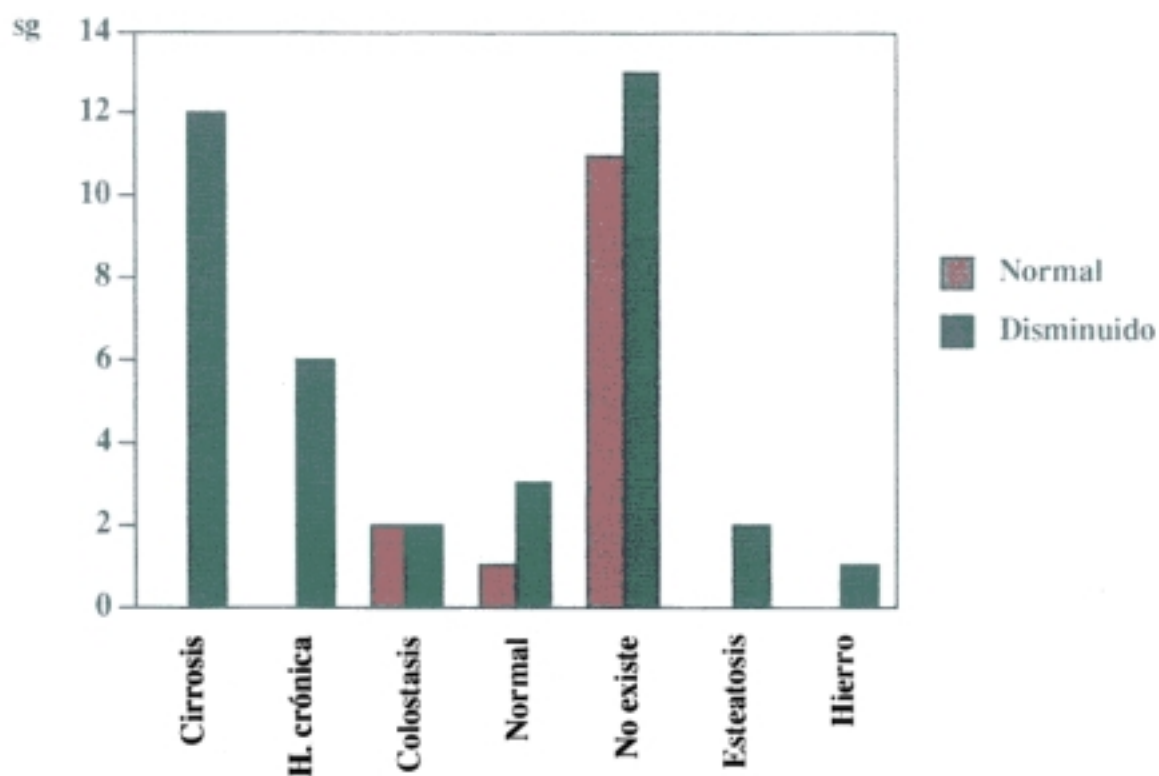


Figura 30.- Relación entre el tiempo de protrombina y el tejido hepático no tumoral.

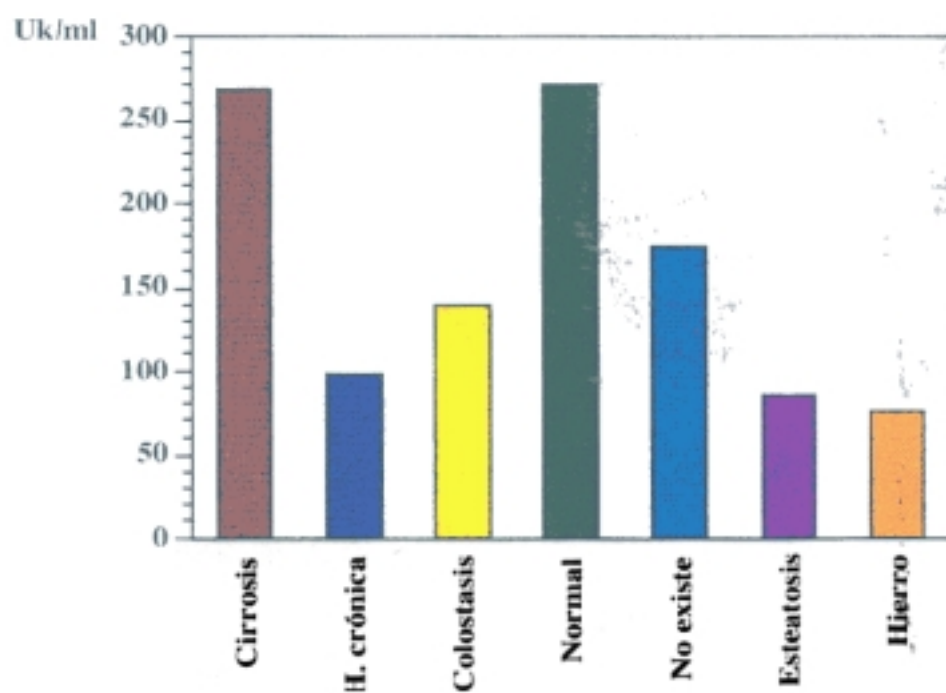


Figura 31.- Relación entre la GOT y el tejido hepático no tumoral.

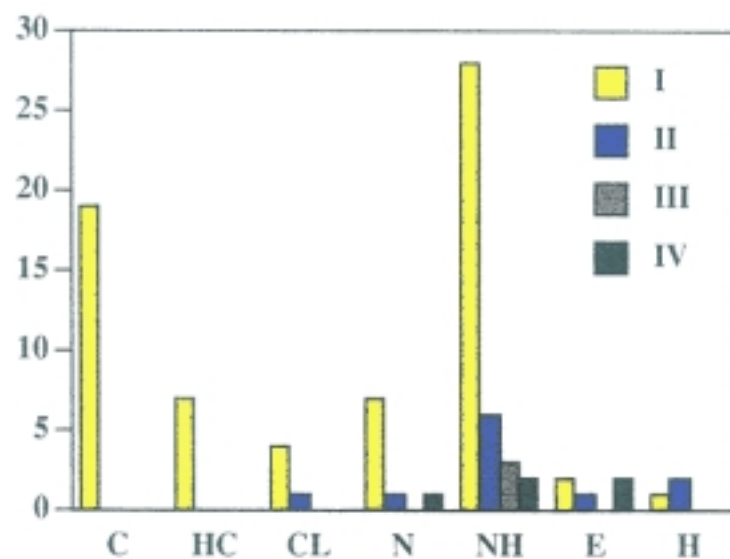


Figura 32.- Relación entre la clasificación de los tumores primarios y el tejido hepático no tumoral.

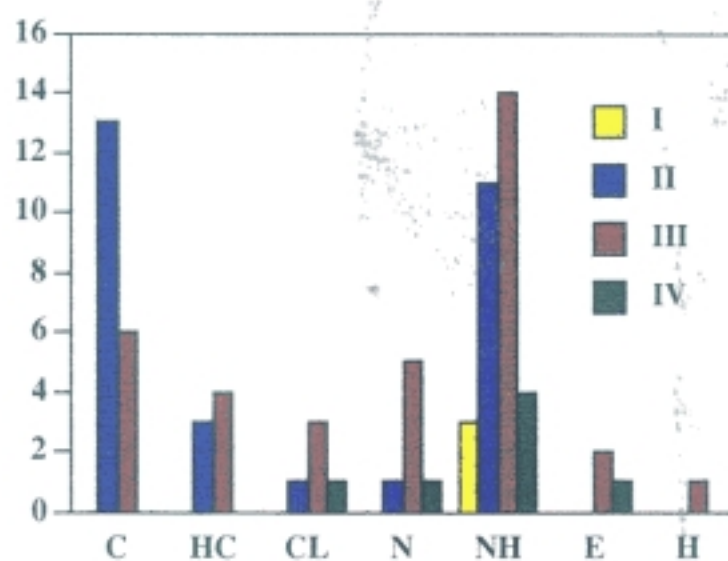


Figura 33.- Relación entre la clasificación de los tumores primarios y el grado de diferenciación.

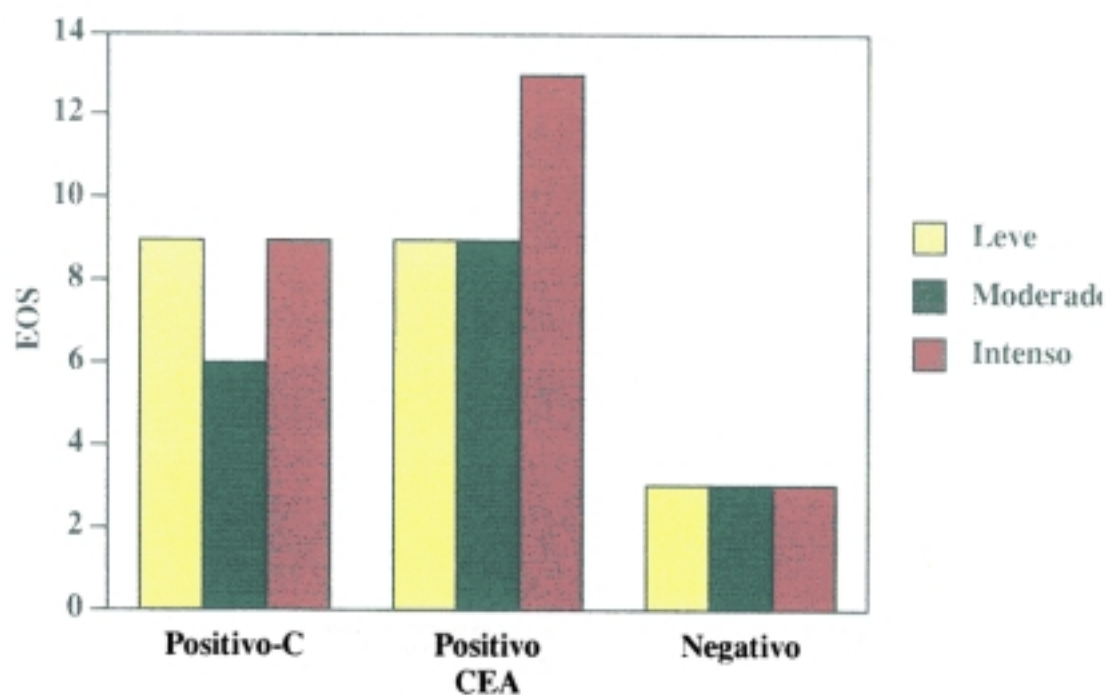


Figura 34.- Relación entre el grado de eosinofilia de los tumores primarios y el CEA tisular.

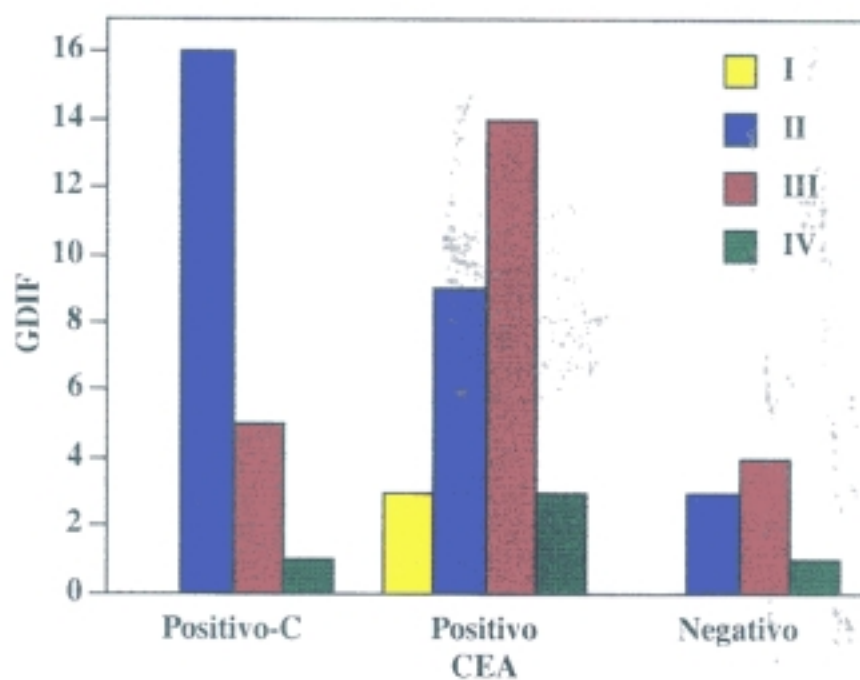


Figura 35.- Relación entre el grado de diferenciación de los hepatocarcinomas y el CEA tisular.

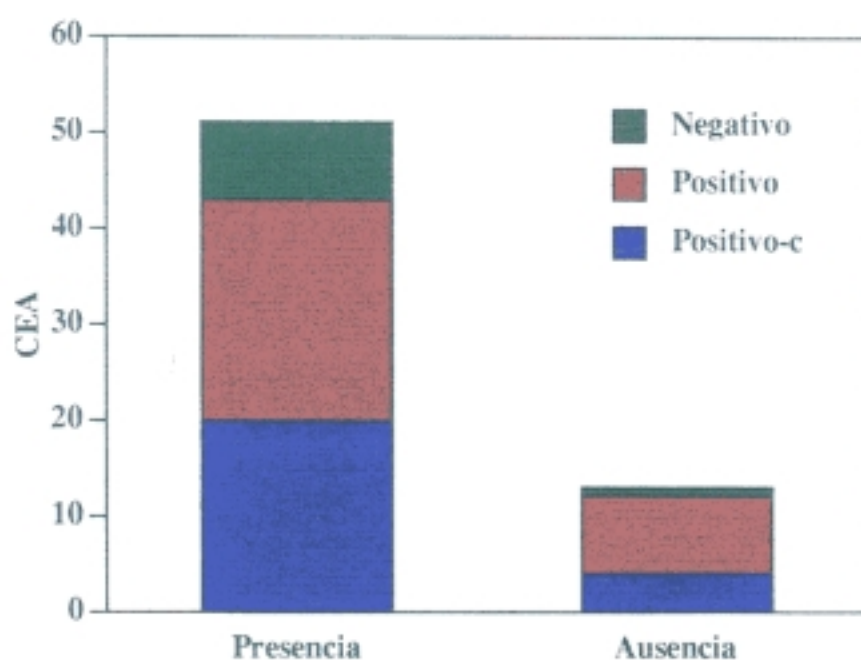


Figura 36.- Relación entre la presencia de dos tipos celulares neoplásicos y el CEA tisular.

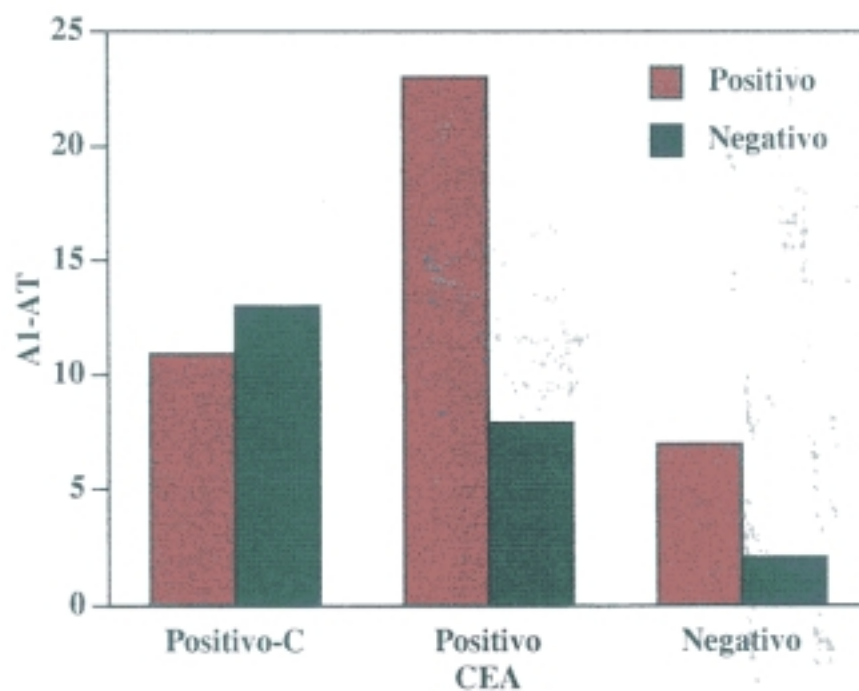


Figura 37.- Relación entre la ALAT y el CEA tisular.

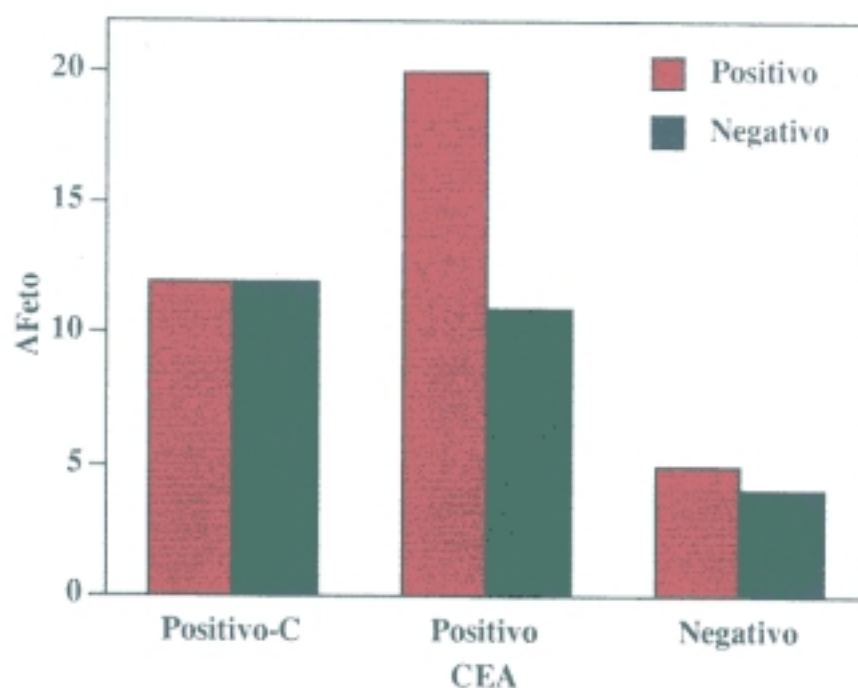


Figura 38.- Relación entre la AFETO y el CEA tisular.

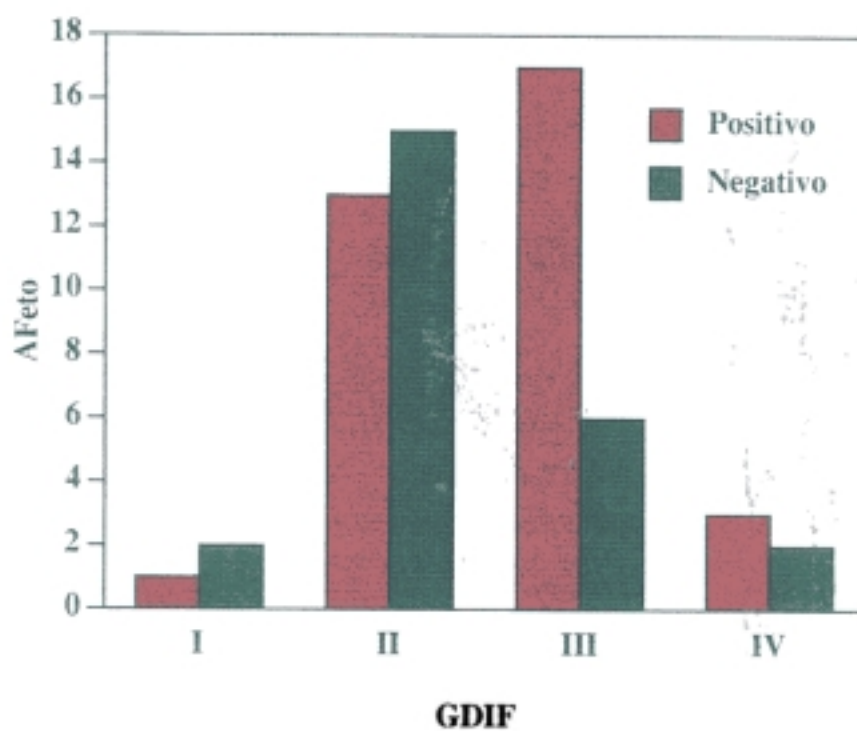
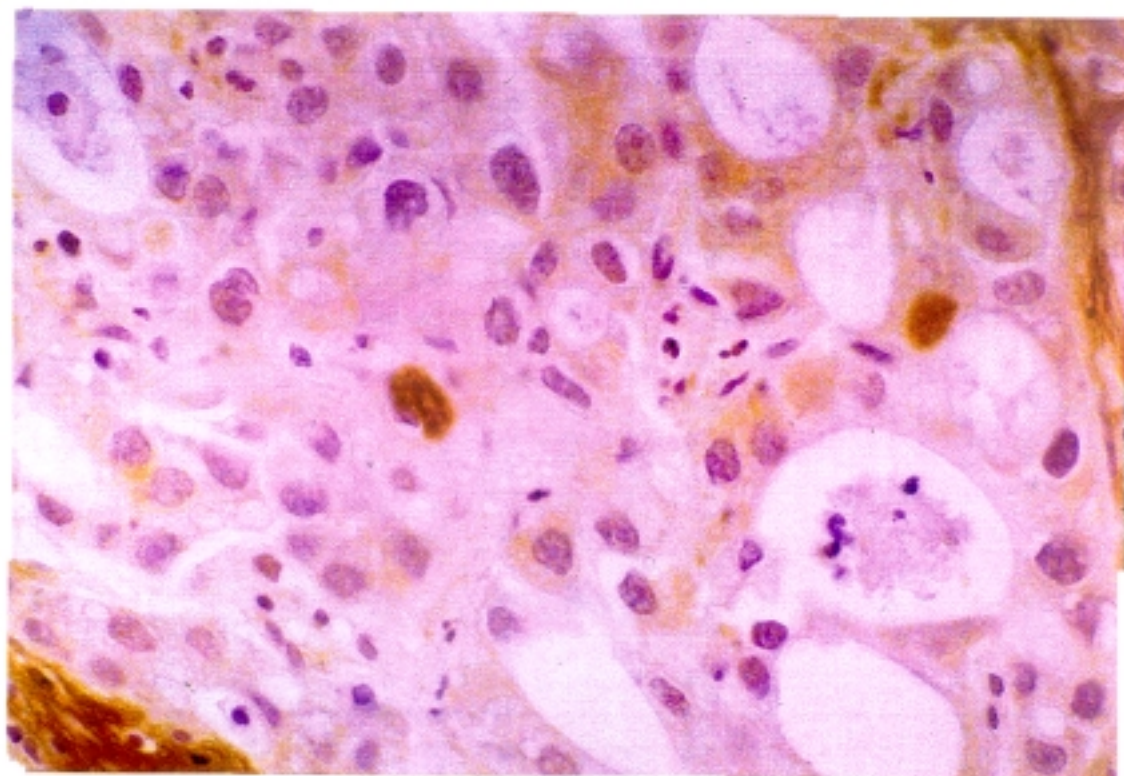
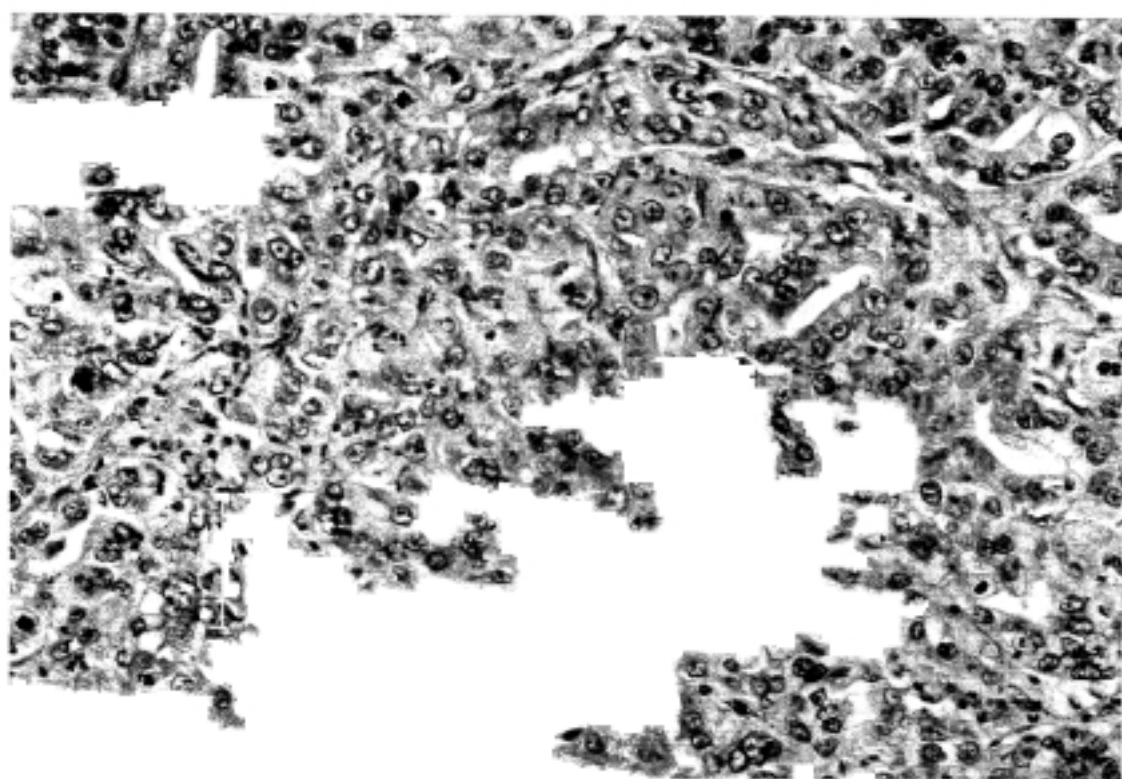


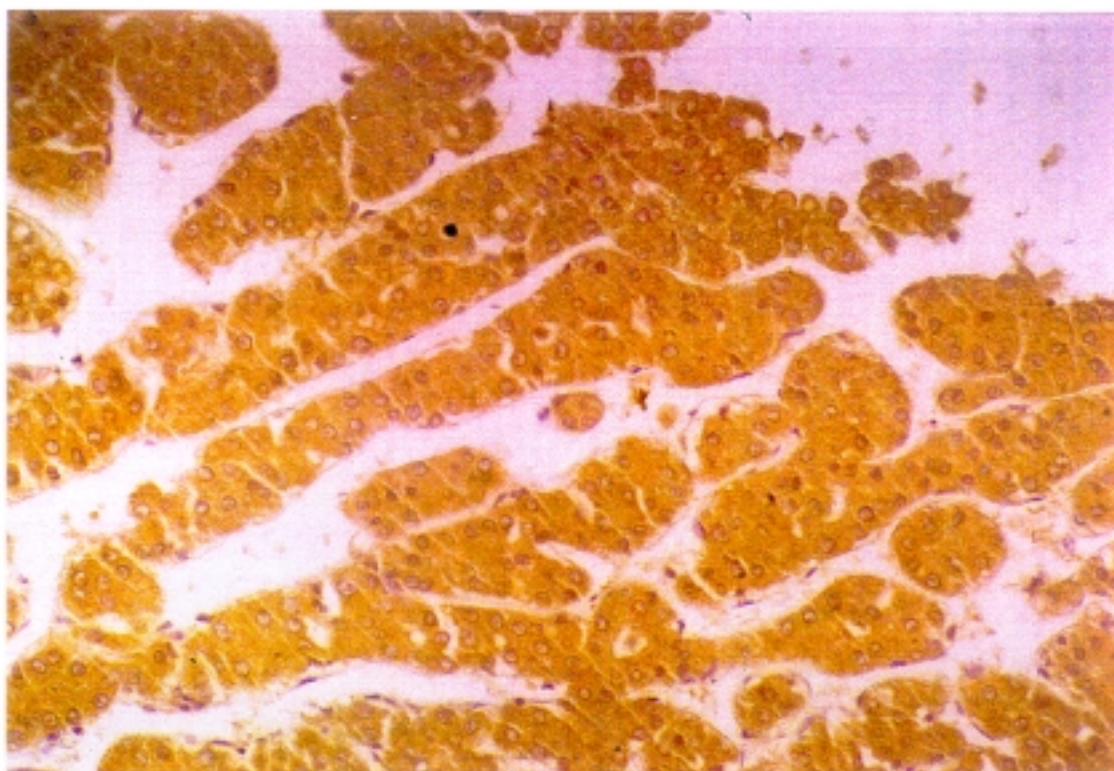
Figura 39.- Relación entre el grado de diferenciación de los hepatocarcinomas y la AFETO.



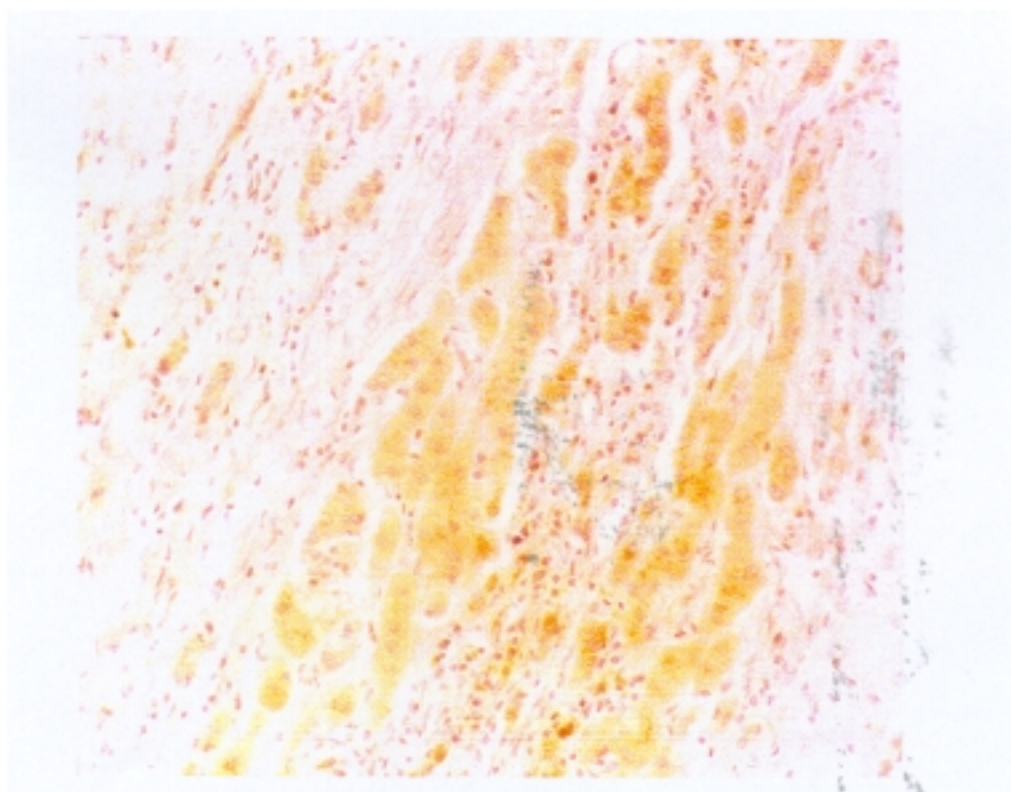
ILUSTRACION 1.- Expresión del AgHBs en el citoplasma de las células de un carcinoma hepatocelular.



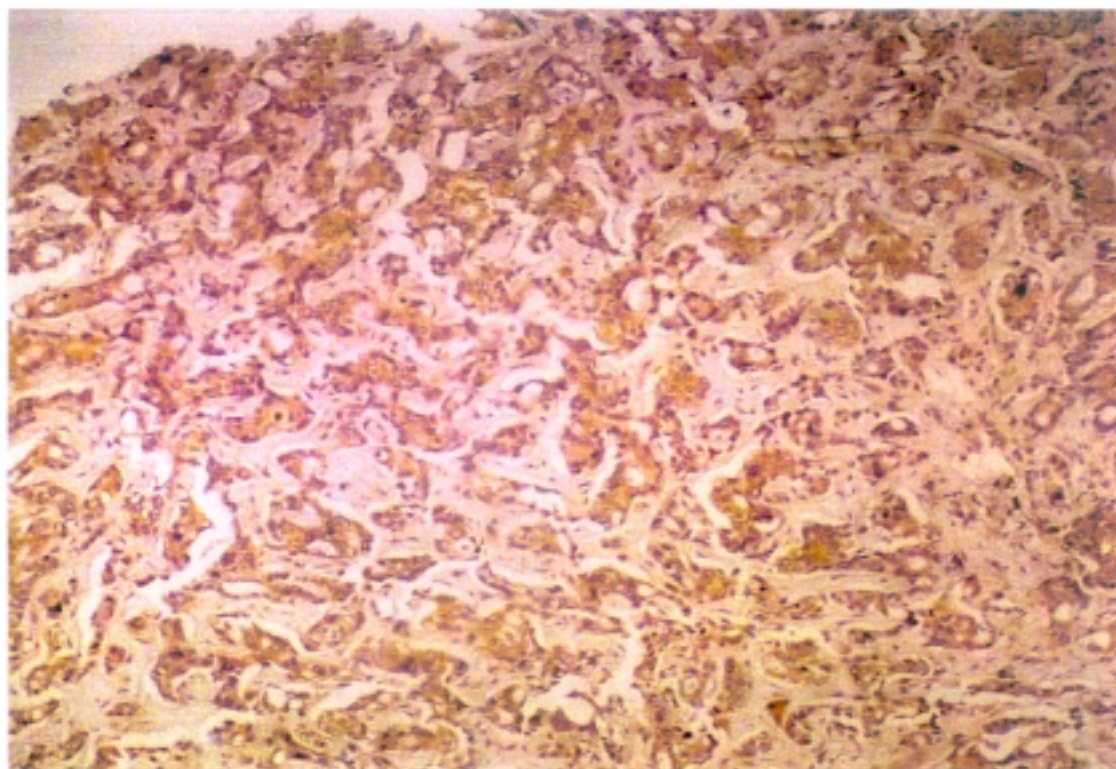
ILUSTRACION 2.- Expresión del AgHBc en el núcleo de células de un hepatocarcinoma.



ILUSTRACION 3.- Expresión del antígeno carcinoembrionario en los hepatocitos de un carcinoma hepatocelular.



ILUSTRACION 4.- Expresión de alfa-1-antitripsina en el citoplasma de las células de un carcinoma hepatocelular.



ILUSTRACION 5.- Expresión de alfa-fetoproteína en el citoplasma de los hepatocitos de un hepatocarcinoma.

V. DISCUSSION

D I S C U S I O N

1.- GENERALIDADES.

A. TUMORES HEPATICOS PRIMARIOS.

Actualmente el hepatocarcinoma es el séptimo cáncer más frecuente en el hombre y el noveno en la mujer, considerando todo el mundo ⁽¹⁷⁶⁾.

Los datos epidemiológicos recogidos en este trabajo proceden del INE, de la Comunidad de Madrid y del Ayuntamiento de Madrid y demuestran un aumento progresivo de la incidencia del hepatocarcinoma y del colangiocarcinoma en España. Ello se debe fundamentalmente a la mejora en el diagnóstico y en el tratamiento estadístico que se hace de estos datos. No obstante, no podemos descartar un aumento real de la incidencia de esta enfermedad dado que la población está expuesta a los factores etiológicos más importantes como son el alcohol y los virus B y C de la hepatitis, tanto o más que en décadas pasadas.

Analizando estos datos, observamos un cambio brusco en el diagnóstico de causa de muerte por hepatocarcinoma a partir de 1980 y, sobre todo, de 1984 debido sin duda a un cambio en el criterio a la hora de diagnosticar la muerte por esta enfermedad, o a una pérdida masiva de datos, o a ambos. Ha sido imposible verificar la causa.

El hepato-colangiocarcinoma no está incluido como diagnóstico específico en la CIE 9ª y por tanto no existen datos epidemiológicos propios de este tumor.

El hepatoblastoma es un tumor excepcional, por lo que, no puede ser estudiada su evolución en los últimos años. En nuestra serie aportamos tres casos en 22 años.

Por todo lo anterior podemos asegurar que el cáncer de hígado será una de las cinco neoplasias más frecuentes del hombre en los próximos años.

B. SELECCION DE CASOS.

Como se indicó en el apartado de material y métodos, hemos considerado "caso" a cada biopsia de tumor hepático maligno primario existente en el servicio de Anatomía Patológica, y hemos utilizado técnicas habituales de tinción de tejidos y las técnicas de inmunohistoquímica para seleccionarlos.

La diversidad de servicios en los que ingresan estos pacientes, la multitud de trabajos realizados sobre esta enfermedad y la antigüedad del comienzo del periodo de estudio, han hecho que en la actualidad de 160 casos investigados, sólo se conserven 87 con datos clínicos suficientes para realizar un trabajo de investigación de estas características.

Para comparar los datos clínicos con los morfológicos se seleccionaron los casos con biopsia que también disponían de la historia clínica, aunque ello supusiera rechazar 73 casos.

Para el estudio exclusivamente morfológico, se utilizaron los 160 casos. Esto ha supuesto elaborar dos hojas de cálculo y manejarlas de modo independiente.

C. SELECCION DE VARIABLES.

En el estudio clínico hemos escogido filiación, síntomas, signos y los datos analíticos que con más frecuencia aparecen en la literatura, limitados siempre por la disponibilidad de los mismos en las historias clínicas. Ello nos ha dado una visión detallada y completa de la clínica de los carcinomas hepáticos.

En el estudio morfológico hemos estudiado en cada caso 47 variables que hemos seleccionado de acuerdo con la literatura internacional. Esto ha permitido describir cada caso de una forma exhaustiva no reflejada en ninguna publicación ni texto de los que hemos manejado.

Para el estudio inmunohistoquímico se han seleccionado las cinco técnicas más importantes destacadas en la bibliografía y a su vez asequibles en el mercado para un laboratorio de Anatomía Patológica de la mayoría de los hospitales españoles.

Para el estudio estadístico de estos tumores se han seleccionado las variables que hemos considerado más interesantes y las que la literatura destaca.

2.- ESTUDIO CLINICO.

De los datos clínicos estudiados habitualmente en los tumores hepáticos, hemos seleccionado los siguientes por considerarlos más significativos y por estar disponibles en la mayoría de las historias clínicas revisadas.

Referente al **sexo** y **edad**, nuestro país se sitúa en las estadísticas de los países occidentales desarrollados con una incidencia más común en la quinta y sexta décadas de la vida y una relación hombre:mujer de 2:1 a 3:1.

Nuestra serie confirma estos datos agrupándose el 91.97% de los casos en la quinta, sexta y séptima décadas. La relación H:M se sitúa en el 2:1.

Tanto la edad como el sexo son independientes del tipo tumoral, arquitectura del tumor, grado de diferenciación y de las características del tejido hepático no tumoral.

En este apartado debemos hacer referencia especial a los hepatoblastomas.

Sólo tenemos dos casos de tumores hepáticos en menores de un año, ambos hepatoblastomas, aunque el tercer caso de este tipo tumoral aparece en una persona de 76 años. Esto puede explicarse si se atribuye el origen de los hepatoblastomas a una célula pluripotencial presente en el hígado normal, ya que no existen hepatocitos inmaduros en el hígado normal a esas edades, que por estímulos endógenos o exógenos comienza a multiplicarse sin control en forma de hepatocitos embrionarios o fetales. Otra hipótesis sería la dediferenciación de hepatocitos maduros

normales o tumorales a células inmaduras.

Los **síntomas** y **signos** más comunes en las series y en nuestra casuística son el dolor abdominal, la astenia y la hepatomegalia, aunque hemos encontrado una baja incidencia de hipersensibilidad local.

Asimismo, los **datos analíticos** se encuadran en los esperados según la mayoría de las series con la presencia de anemia, hipoalbuminemia, disminución del tiempo de protrombina y aumento de las transaminasas, bilirrubina total, fosfatasa alcalina y velocidad de sedimentación en la mayoría de los casos.

No hemos encontrado relación significativa entre estos datos y la clasificación de los tumores hepáticos primarios, la arquitectura, el grado de diferenciación y el tejido hepático no tumoral, lo que parece indicar que es la enfermedad de base y el efecto masa de la neoplasia, lo que provocaría estos resultados clínicos más que la histopatología del tumor.

En lo que se refiere a la **alfafetoproteína sérica**, en nuestra serie encontramos una elevación en el 62.76% de los casos. Sin duda la antigüedad de parte de nuestros casos influye en este resultado por la mejoría en las técnicas de detección de esta proteína. No obstante, estas cifras son equiparables a las de los demás autores españoles.

No existe relación significativa entre la alfafetoproteína sérica y la clasificación de los tumores, arquitectura, grado de diferenciación ni el tejido hepático no tumoral, pero es de destacar que existe elevación de la alfafetoproteína en todos los tipos tumorales y en uno de los hepatoblastomas su cifra es

normal.

El análisis de la tabla de frecuencias de la alfa- fetoproteína sérica y la tisular nos lleva a la conclusión de que son independientes, es decir, que el depósito intracelular de la proteína a niveles detectables mediante inmunohistoquímica y la secreción de la misma por las células neoplásicas a la sangre son dos procesos diferentes.(figura 26)

La serología de la **hepatitis B** es positiva en los hepatocarcinomas, colangiocarcinomas y tumores combinados, aunque de los diez casos positivos en suero, sólo seis lo son en el tejido tumoral (cinco hepatocarcinomas y un tumor combinado).(figura 27)

Al igual que en la alfafetoproteína, la expresión del AgHBs en el hepatocito tumoral no está relacionado significativamente con su presencia en el suero. Desconocemos el motivo. Las hipótesis serían que la técnica inmunohistoquímica sea menos sensible que la sérica, que la ausencia de antígeno vírico en los cortes estudiados no quiere decir que no exista en otras áreas del tumor, que el cáncer tiene otros factores etiológicos distintos del virus B de la hepatitis, que el virus B produzca cambios en el genoma de los hepatocitos pero no se acumule en su citoplasma, o varios de ellos.

En los casos de colangiocarcinoma con positividad al AgHBs en suero habría que explicarlo por la coincidencia en el mismo paciente de estos dos hechos, pero no relacionados, mientras no se demuestre la presencia del virus en la células ductales tumorales.

Analizando las variables clínicas, ninguno de los tumores primarios de hígado presentan diferencias estadísticamente significativas ($p < 0.05$).

3.- ESTUDIO MORFOLOGICO

La descripción y relación de las variables morfológicas se ha llevado a cabo con los 160 casos de la serie. La relación de las variables morfológicas con las clínicas y con los datos inmunohistoquímicos se ha realizado con los 87 y 67 casos de los que disponemos información sobre ambas variables. El resto de casos se han desechado para esta relación. Esto, aunque merme la serie a la mitad, permite un estudio estadístico con un número de casos suficiente como para aplicar el test de la Chi-cuadrado.

A. GENERALIDADES

Las variables morfológicas estudiadas en este trabajo son una ampliación de todas aquellas utilizadas en la bibliografía internacional para describir los tumores hepáticos primarios. Hemos añadido aquellas que nos parecían importantes para el estudio de estos tumores con la finalidad de obtener una descripción completa y detallada de los mismos.

Hemos introducido una variable morfológica nueva para este estudio como es la existencia o no de un segundo tipo celular tumoral. Debe entenderse por tal la presencia en el mismo tumor de dos células neoplásicas de características diferentes, por lo que hemos descrito exhaustivamente los detalles citopatológicos

de cada una de ellas.

En los hepatocarcinomas y en los colangiocarcinomas estas dos células corresponden a hepatocitos y a células ductales respectivamente, con distinto grado de diferenciación. En los hepato-colangiocarcinomas corresponden al componente hepatocelular y colangiocelular y en los hepatoblastomas a los hepatocitos fetales y embrionarios.

Para estudiar la **clasificación** de los tumores de nuestra serie, escogemos cuatro categorías de la clasificación general de los tumores hepáticos primarios y rechazamos las demás, bien por ausencia de casos en la serie (tumores excepcionales), bien por no ser motivo de este trabajo, aunque sean frecuentes (tumores benignos). La baja incidencia del hepatoblastoma y del tumor combinado ha dificultado el estudio estadístico pero no así el descriptivo.

Al igual que en todas las series consultadas, el hepatocarcinoma es el tumor hepático primario más frecuente con un 88.2% de los casos. En segundo lugar queda el colangiocarcinoma con el 6.9% de los casos.

Hemos considerado al tumor combinado un tipo tumoral diferente al hepatocarcinoma y al colangiocarcinoma porque morfológicamente tiene características bien definidas y distintas del resto, mezcla del hepatocarcinoma y del colangiocarcinoma pero diferentes de cada uno de ellos. Representa el 3.1% de todos los tumores hepáticos primarios, siendo el hepatoblastoma el tumor menos frecuente de nuestra serie con un 1.8%.

Comparando la clasificación de tumores primarios de hígado con la existencia de un segundo tipo celular, no encontramos

diferencias estadísticamente significativas en los resultados pero la distribución de frecuencias revela los siguientes datos:

- La mayoría de los tumores con dos tipos celulares son hepatocarcinomas pero también lo son la mayoría de los tumores primarios, como hemos visto.

- Sólo uno de los once colangiocarcinomas tiene dos tipos celulares, lo que nos permite afirmar que es mucho menos frecuente encontrar células de distinto grado de diferenciación en los colangiocarcinomas (9.09%), que en los hepatocarcinomas (32.35%).

- En los hepatoblastomas encontramos dos tipos celulares distintos en dos de los tres casos y en los tumores combinados en todos ellos, por definición. (figura 19)

No hemos encontrado diferencias significativas entre los distintos tipos tumorales según sus infiltrados celulares, depósitos, angioinvasión y estroma del tumor aunque analizando la distribución de frecuencias de estos dos últimos obtenemos, como cabría esperar, que el hepatocarcinoma es el tumor primario que más invasión vascular presenta, por su alta incidencia mas que porque tenga mayor tropismo vascular que los otros tumores. También encontramos que el colangiocarcinoma presenta mucha más cantidad de estroma que los otros tumores aunque no presenta septos, debido a la característica reacción desmoplásica intensa que los acompaña.

El **grado de diferenciación** sólo se ha analizado en los hepatocarcinomas ⁽⁵⁰⁾.

Centrados en esta variable obtuvimos sólo tres tumores de grado I y la gran mayoría (84.61%) de grado II y III. Para clasificarlos de este modo hemos utilizado los rasgos descritos

por Edmondson y hemos analizado otras características, como son la existencia de un segundo tipo celular, el tejido hepático no tumoral y los hallazgos inmunohistoquímicos. Ni el tejido hepático no tumoral, ni los antígenos CEA, alfafetoproteína ni alfa-1-antitripsina están relacionados de forma significativa con el grado de diferenciación, es decir, que ni las características del tejido hepático no tumoral, ni la positividad ni patrón de los antígenos CEA, Afeto y A1AT influyen en el grado de diferenciación del tumor.

Ahora bien, la existencia de un segundo tipo celular sí tiene una relación significativa con el grado de diferenciación ($p < 0.05$). Analizando la tabla de frecuencias observamos que la mayoría de los casos con dos tipos celulares son de grado III (60.86%) y de grado II (21.73%), quedando un 17.39% de grado IV. De los siete casos de grado IV, cuatro tienen dos tipos celulares, mientras que sólo cinco de los veintinueve de grado II lo presentan. (figura 28)

Todo ello nos permite afirmar que la presencia de un segundo tipo celular en un hepatocarcinoma es característica de tumores menos diferenciados, es decir, de alto grado. Esta afirmación no es aplicable a los colangiocarcinomas, tumores combinados ni hepatoblastomas pues la clasificación de Edmondson de los grados de diferenciación se utiliza para los hepatocarcinomas exclusivamente.

B. ESTUDIO CITOLOGICO

Para llevar a cabo este apartado analizamos la forma, tamaño, citoplasma, núcleo y nucleolo celulares.

En ningún caso encontramos diferencias estadísticamente significativas entre otras variables morfológicas o inmunohistoquímicas y estas variables citológicas. No obstante el análisis de las tablas de frecuencias nos ofrece los siguientes datos.

Con respecto a la **forma y tamaño** celulares, la gran mayoría de los tumores tienen células cuboides de mediano tamaño, como los hepatocitos y las células ductales normales. Sólo en tumores muy poco diferenciados, las células son alargadas o grandes. La forma sería la característica citopatológica que con más constancia mantienen las células neoplásicas de los tumores primarios de hígado.

La **cantidad de citoplasma** es inversamente proporcional al tamaño del núcleo y está menos relacionado con el tamaño de la célula. Así la mayoría de las células son de citoplasma medio y escaso, a la vez que de núcleo mediano o grande.

El **contenido celular** es muy variado predominando la bilis y con relativa frecuencia la bilis y la grasa. No hemos encontrado ninguna relación entre los depósitos intracelulares y los extracelulares, ni con los depósitos del tejido hepático no tumoral, ni con los antígenos estudiados mediante inmunohistoquímica, lo que nos permitiría afirmar que los depósitos intracelulares, extracelulares y del tejido hepático no tumoral son independientes entre sí.

La célula tumoral que con más frecuencia se presenta sería aquella de forma cuboide y mediano tamaño, citoplasma granular, más eosinófilo y relación núcleo-plasmática normal o ligeramente aumentada; su núcleo es único, de mediano o gran tamaño, con

nucleolo único, central, tamaño medio y basófilo.

La presencia y características de un **segundo tipo celular** neoplásico es diferente de unos tumores a otros. Así, existe en el 17.82% de los hepatocarcinomas, en los dos tercios de los hepatoblastomas y en todos los colangiocarcinomas. Dejando a un lado estos dos últimos tipos tumorales, que ya fueron descritos previamente, discutiremos las características de la segunda célula neoplásica que aparece en los hepatocarcinomas.

Generalmente son células cuboides de tamaño semejante al de la otra célula tumoral pero su citoplasma es escaso, granular, ligeramente eosinófilo, tendente a la basofilia y sin contenido destacable. Ocasionalmente se ha encontrado bilis, grasa o ambos. Su núcleo suele ser único, grande e hipercromático, con un nucleolo central, de mediano tamaño y basófilo.

Por todo ello, sería un hepatocito neoplásico con menor presencia en el tumor y menos diferenciado, dispuesto de forma dispersa y salpicado por toda la neoplasia, o bien, situándose en pequeños nódulos en el seno d la lesión.

Hay casos en que las células son tan anaplásicas que no podemos asegurar que sean hepatocitos.

C. ESTUDIO DEL TEJIDO HEPATICO NO TUMORAL

Entendemos por tal a aquel parénquima hepático que separa o rodea al tumor en estudio y no tiene características citológicas de neoplasia.

Antes de iniciar su estudio debemos destacar los siguientes puntos:

En primer lugar el estudio del tejido hepático no tumoral en el material de biopsia destinado al estudio del tumor tiene limitaciones cuantitativas como revela el dato de que en setenta casos no hay material suficiente para llegar a un diagnóstico.

En segundo lugar, estimamos que desde el punto de vista cualitativo el diagnóstico es correcto pues equivale y supera en cantidad de material y técnica a una biopsia hepática normal. En los casos en los que el parénquima hepático es normal, no puede asegurarse que el resto del hígado lo sea, pero en una biopsia, por punción o quirúrgica, tampoco.

Hemos considerado interesante su estudio para tratar de comprobar su implicación en las características clínicas, tipo tumoral y grado de diferenciación.

Analizando las tablas de distribución de frecuencias, observamos que la albúmina y el tiempo de protrombina dependen principalmente del tejido hepático no tumoral, estando disminuidos especialmente en la hepatopatía crónica y en la colostasis. No obstante es indudable que la enfermedad crónica que supone el tumor y la anorexia de estos pacientes influyen notablemente en estos resultados.(figuras 29 y 30)

La GOT, bilirubina y fosfatasa alcalina, aunque estén influidas por la patología hepática no tumoral, se relacionan más con el efecto masa del tumor sobre el hígado que sobre el parénquima hepático donde asienta.(figura 31)

Con respecto al tipo tumoral, observamos que todos los tumores que asientan sobre un hígado cirrótico son hepatocarcinomas, en total 26 casos. Esto confirma lo apuntado en la etiopatogenia del colangiocarcinoma y del hepatoblastoma, y está de acuerdo con las series consultadas.(figura 32)

Relacionándolo con el grado de diferenciación y estudiando la tabla de frecuencias podemos afirmar que en nuestra serie los tumores que asientan sobre cirrosis suelen ser de grado de diferenciación bajo (II,III) y los que se acompañan de depósito de hemosiderina o de hemosiderosis en el hígado suelen ser de un grado de diferenciación más elevado (III,IV), pero estas diferencias no tienen significación estadística.(figura 33)

4.- ESTUDIO INMUNOHISTOQUIMICO

Desde hace una década se viene aplicando la inmuno-histoquímica de rutina en los laboratorios de patología.

En los tumores hepáticos primarios, estas técnicas tienen fines más científicos que prácticos ya que sigue siendo la interpretación de la hematoxilina/eosina la que da el diagnóstico.

Hemos utilizado las técnicas de detección de los antígenos CEA, AgHBs, AgHBc, alfa-fetoproteína y alfa-1-antitripsina, que son los más utilizados en los tumores hepáticos por la mayoría de los autores, están disponibles en gran parte de los laboratorios y son los que más utilidad han demostrado en estos tumores.

Otras técnicas inmunohistoquímicas reflejadas en la literatura y aplicables a los tumores hepáticos primarios como, son la proteína C reactiva, el factor XIIIa, las citoqueratinas y el CA 19-9, han sido descartadas para este trabajo por su menor disponibilidad, baja sensibilidad y especificidad.

A. ANTIGENO DE SUPERFICIE DEL VIRUS B DE LA HEPATITIS.

La relación entre el virus B y el hepatocarcinoma se estableció en base a estudios epidemiológicos. Las técnicas inmunohistoquímicas han demostrado la presencia de este virus en los hepatocitos tumorales con más especificidad que la orceína, incluso aunque el aspecto morfológico, en hematoxilina/eosina, no fuera sugerente.

Ni los estudios epidemiológicos ni inmunohistoquímicos han relacionado este virus con el colangiocarcinoma ni con el hepatoblastoma. No existen series que traten específicamente el tumor combinado dada la baja incidencia del mismo y la peculiaridad de ser mezcla en todas sus características del carcinoma hepatocelular y del colangiocarcinoma.

Nuestra serie corrobora estas afirmaciones al no detectar la presencia del virus B en ningún caso de colangiocarcinoma ni de hepatoblastoma y sólo se ha encontrado en la parte hepatocelular de un tumor combinado y en cinco hepatocarcinomas.

Los autores europeos utilizan el anticuerpo primario de Dako a diluciones 1/75 y 1/100 con anticuerpos policlonales. Los autores norteamericanos y japoneses utilizan otro anticuerpo

primario.

En este trabajo se ha utilizado el suero primario de Dako a diluciones 1/75 sobre muestras en parafina, lo que nos ha permitido recuperar casos antiguos y en número suficiente para llevar a cabo un estudio estadístico.

De este modo hemos obtenido una presencia de AgHBs en el 8.95% de los hepatocarcinomas y en el 8.7% del total de tumores primarios, resultado equiparable al de series españolas ⁽⁵⁹⁾, europeas ⁽⁸⁵⁾, norteamericanas ⁽²⁰²⁾ y orientales ^(187,83).

El patrón de distribución del AgHBs en las células neoplásicas utilizado como referencia es el descrito por Borchard y Gussmann y empleado por la mayoría de autores ⁽¹³⁾.

Según esto, en nuestra serie se presenta con más frecuencia el difuso, seguido del moteado y globular. Las células positivas se reparten en uno o dos áreas tumorales en la mayoría de los casos, quedando aisladas a lo largo del tumor en el resto.

En ningún caso hemos encontrado distribución intranuclear del AgHBs, como apunta Ferrández ⁽⁵⁹⁾.

En el 31.3% de los casos el AgHBs se encuentra presente en las células del tejido hepático no tumoral y lo hace adoptando un patrón difuso en áreas, que coincide con los resultados de otras series.

Aunque esta técnica se utilice fundamentalmente como aproximación etiológica al hepatocarcinoma, en los tumores

combinados que, como hemos visto antes, son tumores peor diferenciados, la hematoxilina/eosina puede plantear algunas dudas diagnósticas. En estos casos las técnicas inmunohistoquímicas utilizando los antígenos AgHBs y alfa-fetoproteína pueden ser definitivas pues no se ha demostrado su presencia en ningún colangiocarcinoma.

Debido al poco número de casos positivos respecto del total de la serie, no es posible llevar a cabo un estudio estadístico.

No obstante, observando los resultados, destaca la escasa diferenciación (grado III,IV) que presentan estos casos; la existencia de hepatitis crónica activa o cirrosis en el hígado no tumoral de la mayoría de los casos y la alta incidencia y extensión de la necrosis tumoral (cinco de los seis casos).

B. ANTIGENO NUCLEAR DEL VIRUS B DE LA HEPATITIS.

El AgHBc ha sido localizado en los tumores hepáticos por diversos autores con una frecuencia que oscila entre un 0% ⁽²⁰²⁾ y un 4.2% ⁽¹⁸⁷⁾ y en el tejido hepático no tumoral entre un 9% ⁽²⁰²⁾ y un 20.6% ⁽⁵⁹⁾. Los tumores en los que se ha evidenciado este antígeno eran hepatocarcinomas, siendo negativo en colangiocarcinomas, hepatoblastomas y tumores combinados.

En nuestra serie hemos demostrado la presencia del AgHBc en dos casos, ambos hepatocarcinomas, lo que representa el 2.98% de todos los tumores primarios y el 3.5% de los hepatocarcinomas.

En el tejido hepático no tumoral se ha encontrado en el 10.9% de los casos. Ambos resultados son equiparables a los de las series internacionales publicadas. En los dos casos de positividad en células neoplásicas existe también en el tejido no tumoral, dato destacado ya por otros autores ⁽¹⁸⁷⁾.

Mediante esta técnica el antígeno nuclear se presenta como un fino granulado intranuclear en hepatocarcinomas bien diferenciados o limitado al citoplasma en hepatocarcinomas fibrolamelares ⁽⁵⁹⁾.

En nuestros casos el antígeno se presenta como pequeños grumos dispersos por todo el núcleo y limitados a él. En ningún caso existía presencia en el citoplasma. Los dos eran hepatocarcinomas de grado de diferenciación II y III.

No hemos diagnosticado ningún hepatocarcinoma fibrolamelar.

En algunas series se ha destacado la coincidencia de positividad al AgHBs y al AgHBc en todos los casos de expresión del antígeno nuclear ^(187,59). En nuestra serie un caso coincide con la expresión del AgHBs pero en el otro es negativo.

Si aceptamos que en los hepatocarcinomas el virus B de la hepatitis se encuentra integrado en el genoma del hepatocito neoplásico y libre y que las células tumorales producen partículas víricas ⁽¹⁸⁷⁾, el segundo caso sería un hepatocarcinoma en el que las células han producido AgHBc pero no AgHBs, es decir, que la producción de partículas víricas del virus B por la célula tumoral se realiza de forma independiente. Esto coincide con lo apuntado por otros autores en casos de hepatitis crónica

activa ^(124,168), aunque no hemos encontrado referencias en tumores.

Debido a la escasez de casos positivos no puede realizarse un estudio estadístico, pero analizando los dos casos positivos, cabe destacar que ambos presentan necrosis más o menos extensa, son de grado de diferenciación II y III y el tejido hepático no tumoral es cirrótico.

C. ANTIGENO CARCINOEMBRIONARIO (CEA).

El CEA es una proteína descrita en 1965 por Gold y Freedman aislada en el suero, en tejidos normales (colon, pulmón, hígado, intestino delgado y glándulas salivales) ^(29,90,117) y en varios tipos de tumores epiteliales ^(103,133) entre ellos los hepáticos primarios.

La frecuencia con la que está presente en estos casos varía mucho de unas series a otras quizás debido a la utilización de anticuerpos policlonales con diferente especificidad o a reacciones cruzadas de los anticuerpos anti-CEA con diversos antígenos del tejido hepático no tumoral ⁽¹⁸⁹⁾. Así, las cifras oscilan entre un 14.8% ⁽⁵⁹⁾ a un 47% ⁽⁹³⁾.

La distribución de este antígeno en el hepatocarcinoma sigue dos patrones diferentes, utilizando anticuerpos policlonales. Por un lado la localización citoplásmica, en forma de un punteado granular de los colangiocarcinomas, tumores combinados, hepatoblastoma y hepatocarcinomas. En este último suele localizarse en el polo biliar de los hepatocitos, mientras que en los colangiocarcinomas suele ser difuso o luminal o ambos ⁽⁹³⁾.

Por otro lado, el patrón canalicular, descrito anteriormente, es muy específico del hepatocarcinoma y propio de tumores moderadamente-bien diferenciados, aunque aparece en menos de la mitad de los casos ^(93,59). No obstante se ha descrito la presencia de un patrón canalicular en adenocarcinomas hepáticos de origen desconocido, primarios o metastáticos ⁽⁸⁵⁾. Con anticuerpos monoclonales se detecta la presencia de CEA en el citoplasma de las células de colangiocarcinomas y adenocarcinomas indiferenciados pero no en los hepatocarcinomas ⁽⁸⁵⁾.

El tejido hepático no tumoral también expresa el antígeno CEA, fundamentalmente en casos de hepatopatía crónica. No se ha descrito localización intranuclear del CEA.

En nuestra serie, se han utilizado anticuerpos policlonales por su mayor disponibilidad y aplicación.

La frecuencia de presentación del CEA en los hepatocitos neoplásicos es mayor que en otras series, con un 85.07% del total de tumores primarios y un 82.45% de los hepatocarcinomas. El 44.68% de los hepatocarcinomas positivos presentan un patrón canalicular, presente este en los hepatocarcinomas y en el componente hepatocelular de los tumores combinados. El resto de los hepatocarcinomas positivos, los colangiocarcinomas y hepatoblastomas presentan un patrón citoplásmico.

No hemos demostrado patrón canalicular en los colangiocarcinomas ni en los hepatoblastomas. Esto coincide con lo aportado por los autores consultados.

C.1. RELACION CON VARIABLES CLINICAS

Ninguna de las relaciones entre la expresión del CEA en las células tumorales y diversas variables clínicas es estadísticamente significativa, excepto la establecida entre la presencia o no de cirrosis y el CEA tisular. Analizando la tabla de frecuencias encontramos que en los casos diagnosticados de cirrosis, el CEA en las células tumorales es positivo con más frecuencia que en casos sin cirrosis ($p < 0.05$). Esto coincide con lo aportado por Ferrández-Izquierdo. Podría explicarse, al menos en parte, por que existiera una reacción cruzada de los anticuerpos anti-CEA y diversas proteínas del hepatocito cirrótico.

Esta relación no se da con la AlAT ni con la alfa-fetoproteína. Analizando la relación entre la alfa-fetoproteína sérica y el CEA tisular, observamos que no existe una relación estadísticamente significativa entre ellos, pero que en los casos CEA-positivo es tres veces más frecuente que la alfa-fetoproteína sérica está aumentada, lo que podría indicar la tendencia de estos tumores a producir antígenos oncofetales, CEA y alfa-fetoproteína. Esto también se confirma al comparar la alfa-fetoproteína tisular y el CEA.

C.2. RELACION CON VARIABLES MORFOLOGICAS

En la literatura internacional consultada, apenas existen datos que relacionen características histopatológicas del tumor con el antígeno carcinoembrionario tisular. Sólo la cirrosis y el grado de diferenciación relacionado con el patrón canalicular han sido estudiados con mayor amplitud. Creemos que el CEA puede aportar más información que la que actualmente se obtiene y

nuestros resultados así lo demuestran.

Relacionando el CEA con el grado de eosinofilia de los hepatocitos tumorales obtenemos que a mayor eosinofilia del citoplasma de las células neoplásicas, mayor es la incidencia de positividad al CEA ($p < 0.01$). (figura 34)

Por otro lado, relacionando el CEA con el grado de diferenciación, no obtenemos unos resultados estadísticamente significativos pero analizando la tabla de frecuencias se observa que cuanto más alto es el grado de diferenciación del tumor, existe menor frecuencia de positividad al CEA, o, lo que es lo mismo, la mayoría de casos positivos al CEA son tumores de grado II y III. (figura 35)

Teniendo en cuenta estas observaciones podemos deducir que si el grado de eosinofilia es una característica morfológica importante a la hora de establecer el grado de diferenciación de un hepatocarcinoma y el CEA está relacionado con el grado de eosinofilia y de diferenciación en la manera antes descrita, la positividad o negatividad al CEA de los hepatocarcinomas, realizado con anticuerpos policlonales, puede considerarse un dato más para establecer el grado de diferenciación de los hepatocarcinomas.

Si consideramos el patrón de tinción del CEA y lo relacionamos con el grado de eosinofilia celular y con el grado de diferenciación, no observamos diferencias significativas pero destaca que el patrón canalicular es mucho más frecuente en hepatocarcinomas grado II, lo que corrobora los resultados de otros autores citados anteriormente.

Hemos tratado de demostrar alguna relación entre la presencia de depósitos extracelulares de hierro, pigmento biliar y moco y el CEA, así como de la presencia de depósitos extracelulares como bilis, grasa o hierro y el CEA. Para ello hemos relacionado estas variables entre sí. El resultado ha sido que no existe ninguna relación estadísticamente significativa entre los depósitos intracelulares, extracelulares y el CEA tisular.

Con respecto a la presencia de un segundo tipo celular en el tumor y el CEA tampoco encontramos ninguna relación significativa pero prácticamente todos los tumores primarios con dos tipos celulares son CEA positivos (figura 36). Ahora bien, en algo más de la mitad de los casos con dos tipos celulares no existe material suficiente para estudiar la presencia del CEA y la mayoría de los tumores primarios CEA-positivo no presentan dos tipos celulares.

C.3. RELACION CON VARIABLES INMUNOHISTOQUIMICAS

Para conocer si existe o no alguna dependencia entre los resultados de las técnicas inmunohistoquímicas realizadas, hemos relacionado el CEA con la alfa-1-antitripsina y con la alfa-fetoproteína.

Con respecto a la A1AT, se demuestra, como era de esperar, que la mayoría de las veces en que un caso es positivo o negativo al CEA también lo es a la A1AT ($p < 0.05$). Es decir, que estos dos antígenos se expresarían o no a la par, o lo que es lo mismo, el CEA y la A1AT son antígenos diferentes y no miden lo mismo. (figura 37)

Con respecto a la alfa-fetoproteína también observamos que el CEA y la alfa-fetoproteína son significativamente distintas en la valoración de una mediación ($p < 0.05$). (figura 38)

D. ALFA-1-ANTITRIPSINA (A1AT)

El antígeno A1AT es una proteína sérica aislada en diversos tejidos normales (colon, estómago, páncreas) y en diversos tumores, entre ellos los primarios de hígado.

Es uno de los marcadores tumorales más utilizados en el cáncer de hígado aunque algunos autores lo consideren poco útil en el diagnóstico del tumor por su baja sensibilidad y especificidad, 30-80% y 80%, respectivamente ^(93,67,156).

La mayor frecuencia se observa en tumores asociados a ingesta de anticonceptivos orales ⁽¹⁵⁶⁾ y en hepatocarcinomas fibrolamelares ⁽²⁴⁾.

Aunque en los casos de déficit de A1AT existe depósito de esta proteína en el hígado no tumoral y en la neoplasia, la presencia de A1AT en los hepatocitos tumorales no implica la existencia de este defecto ^(11,52,115).

El patrón de presentación es en forma de un fino granulado intracitoplásmico en células asiladas o en áreas. Es independiente de la presencia de cuerpos hialinos ^(59,202).

En nuestra serie, el antígeno A1AT se expresa en el 64.06% de los casos y con un patrón de fino granulado intracitoplásmico en todos los casos. No se ha demostrado presencia intranuclear

del antígeno.

D.1. RELACION CON VARIABLES CLINICAS

No se ha encontrado ninguna relación significativa con las variables clínicas estudiadas, ni ha sido posible relacionarlo con la ingesta de anticonceptivos orales por carecer de esta información.

D.2. RELACION CON VARIABLES MORFOLOGICAS

Comparando la presencia de la A1AT con la clasificación de los tumores hepáticos y analizando la distribución de frecuencias, destaca que esta técnica es positiva en todos los tipos tumorales sin que exista una relación estadísticamente significativa entre ellos. Esto coincide con lo aportado por otros autores ^(93,2).

Al contrario que con el CEA, la A1AT no mantiene una relación significativa con el grado de eosinofilia celular y estudiando sus frecuencias no se aprecian diferencias importantes.

Tampoco existen diferencias destacables al relacionar esta proteína con la presencia o no de depósitos intracelulares ni extracelulares.

Con respecto al grado de diferenciación, aunque no existen diferencias significativas, los hepatocarcinomas positivos son mayoritariamente de grado II y III, aunque, a igual grado, es

tres veces más frecuente que el tumor presente esta proteína que el que no lo haga.

E. ALFA-FETOPROTEINA (AFP)

La alfa-fetoproteína es una proteína sérica fetal descrita por Bergstrand y Halbrecht en 1956. En 1963 Tatarinov utilizó por vez primera la AFP como marcador serológico del hepatocarcinoma. Desde entonces se ha venido utilizando esta globulina como marcador tumoral de los hepatocarcinomas aunque hay que destacar que en condiciones fisiológicas como el embarazo y patológicas como la cirrosis o la hepatitis crónica, aumentan sus niveles en sangre ^(198,199,193,194).

Tras la introducción de técnicas inmunohistoquímicas se estudió si la AFP tisular era un marcador hepatocelular lo suficientemente específico como para clasificar con más precisión los tumores hepáticos primarios. Pronto se demostró que era una técnica poco específica debido a la variedad de enfermedades y hepatopatías en que aparece.

La incidencia de tumores hepáticos con células AFP positivas oscila entre un 2 y un 45% ^(93,202,59,194).

El patrón de presentación es en forma de un granulado fino o grueso de células aisladas en áreas. Algunos autores describen una distribución perivascular de las células positivas ^(70,146,106,163) y los restringen a los casos en los que la AFP sérica está elevada ^(24,202).

En nuestra serie presentamos una prevalencia de la AFP tisular del 57.81% de los casos, que supera ampliamente a las encontradas en la literatura. La sensibilidad de esta técnica es de un 62.5% y la especificidad del 83.3%. El valor predictivo positivo es del 83.3% y el del valor predictivo negativo del 62.5%.

La AFP se distribuye homogéneamente por todo el citoplasma formando granos finos y ocasionalmente más gruesos. No hemos encontrado positividad en el tejido hepático no tumoral próximo al tumor ^(202,169), pero sí demostramos la tendencia a repartirse alrededor de los vasos en algunos casos.

E.1. RELACION CON VARIABLES CLINICAS

No hemos encontrado ninguna relación significativa entre la presencia de AFP tisular y las variables clínicas estudiadas, sin embargo conviene detenerse en dos de ellas.

Por un lado la cirrosis es independiente de la existencia de AFP en las células tumorales aunque aquélla pueda provocar elevaciones de esta en sangre.

Por otro lado aunque la relación entre la AFP sérica y la AFP tisular no sea significativa, los casos con niveles muy elevados de AFP se acompañan de la presencia de la globulina en el tejido.

E.2. RELACION CON VARIABLES MORFOLOGICAS

La AFP se encuentra presente en los tumores hepatocelulares y está ausente en los colangiocarcinomas^(24,93). Dos de tres hepatocolangiocarcinomas son positivos en el área hepato-celular y un hepatoblastoma no presenta la proteína en sus células.

El grado de eosinofilia de las células neoplásicas y la AFP se distribuyen de forma similar, no existiendo diferencias significativas entre ambas variables.

Como en el resto de antígenos, ningún tipo de depósito guarda relación significativa con la AFP, y la presencia de un segundo tipo celular no está relacionado con la positividad de los mismos.

Algunos autores ^(24,39,80) han señalado que el grado de diferenciación influye en la expresión de la AFP tisular, basándose en que ninguno o pocos hepatocarcinomas grado I son positivos para esta técnica. En nuestra serie no existe diferencia significativa entre el grado de diferenciación tumoral y la AFP pero la distribución de frecuencias corrobora lo señalado por otros autores al concentrarse la gran mayoría de los casos positivos en los grados de diferenciación II y III.(figura 39)

E.3. RELACION CON VARIABLES INMUNOHISTOQUIMICAS

Como ya discutimos anteriormente, la AFP y el CEA son significativamente dos técnicas distintas para valorar una característica. Sin embargo, entre la AlAT y la AFP el estudio estadístico no revela diferencia entre ambas aunque así sea por

lógica.

La distribución de resultados en esta serie, con un número elevado y semejante de casos para una técnica y para otra provocan estos resultados.

VI. CONCLUSIONES

C O N C L U S I O N E S

1. Ninguna de las características histopatológicas estudiadas en los tumores hepáticos están condicionadas por el sexo ni la edad del paciente.

2. Los signos y síntomas provocados por los hepatocarcinomas y colangiocarcinomas dependen más del efecto masa del tumor y del estado del tejido hepático no tumoral que de la histopatología de la neoplasia.

3. Los niveles de alfafetoproteína en sangre son independientes de la presencia de esta globulina en las células tumorales.

4. La existencia de dos tipos celulares en un hepatocarcinoma es una característica a tener en cuenta para establecer el grado de diferenciación del mismo, de tal modo que los tumores primarios con dos tipos celulares neoplásicos son casos menos diferenciados y de grado de diferenciación más elevado.

5. Los depósitos intracelulares, extracelulares y los del tejido hepático no tumoral, no están relacionados entre sí ni con el grado de diferenciación del hepatocarcinoma, excepto la producción de bilis.

6. La principal aplicación del AgHBs es en el estudio etiológico de los hepatocarcinomas y en el diagnóstico diferencial de los tumores indiferenciados.

7. El antígeno nuclear de la hepatitis B y el antígeno de superficie se expresan de forma independiente en los hepatocarcinomas.

8. La expresión del antígeno carcinoembrionario por las células del hepatocarcinoma es otro dato a valorar para establecer el grado de diferenciación de los hepatocarcinomas junto con la presencia de un segundo tipo celular y el resto de características apuntadas por Edmondson.

9. El grado de eosinofilia de las células de los carcinomas hepatocelulares es directamente proporcional a la incidencia de positividad del antígeno carcinoembrionario en dichas células.

10. La expresión de la alfa-1-antitripsina por el tumor primario no tiene ninguna relación con las variables clínicas ni morfológicas estudiadas.

11. La presencia de la alfafetoproteína en las células neoplásicas no influye en ninguna de las características clínicas ni morfológicas estudiadas.

VII. BIBLIOGRAFIA

B I B L I O G R A F I A

-
1. ABELEV GI., PEROVE SD., KHRAMKOVA NI., POSTNIKOVA ZA., IRLIN IS. Production of embrional alpha-globulin by transplantable mouse hepatomas. Transplant Bull, 1963; 1:174-180.
 2. ABENZOA P., MANIVEL C., MARK R. Hepatoblastoma: an immunohistochemical and ultrastructural study. Human Pathology, 1987; 18; 10:1025-1035.
 3. ABENZOA P., MANIVEL JC., WICK MR., HAGEN K., DEHNER LP. Hepatoblastoma: ultrastructural study. Hum Pathol, 1988; 1: 25-29.
 4. ALPERT ME., HUTT MSR., DAVIDSON CS. Primary hepatoma in Uganda. A prospective clinical and epidemiologic study of forty-six patients. Am J Med, 1969; 46:794-802.
 5. ALLEN RA., LISA JR. Combined liver cell and bile duct carcinoma. Am J Pathol 1949; 25:647-655.
 6. ANTHONY P P., JAMES K. Pedunculated hepatocellular carcinoma. Is it an entity?. Histopathology, 1987; 11:403-414.
 7. ANTHONY PP. Primary carcinoma of the liver: a study of 282 cases in Ugandan Africans. J Pathol 1973; 110:37-48.

8. AOYAGI Y., SUZUKI Y., ISEMURA M., et al. The fucosylation index of AFP and its usefulness in the early diagnosis of hepatocellular carcinoma. *Cancer*, 1988; 61:769-774.
9. AYRES R., ROBERTSON P., DEWBURY K., MILLWARD-SADLER G., SMITH C. Spontaneous regression of hepatocellular carcinoma. *Gut*, 1990; 31: 722-724.
10. BEASLEY RP. Hepatitis B virus as the etiologic agent in hepatocellular carcinoma: epidemiologic considerations. *Hepatology*, 1982; 2:215-265.
11. BERG NO., ERIKSON S. Liver disease in adults with A1AT deficiency. *N Eng J Med*, 1972; 287:1264.
12. BERMAN M., BURNHAM J., SHEAHAN D. Fibrolamellar carcinoma of the liver. *Human pathology*, 1988; 19,7:784-794.
13. BORCHARD F., GUSSMANN V. Detection of HBsAg-containing cells in liver biopsies by different stains and classification of positively reacting ground-glass hepatocytes. *Virchows Arch(Pat Anat)*, 1979; 384:245-261.
14. BLANES A., ISPIZUA I., RAMON Y CAJAL S., MARTINEZ A. Estudio necrópsico de 30 casos de tumor hepático primitivo. *Rev Clin Esp*, 1975; 139:453-460.
15. BORENFREUND E., DE HARVEN E., CARRA L. Mallory body-like abnormalities in carcinomas induced by cultured transformed rat liver cells. *Hepatology*, 1979; 1:408-415.

16. BRADLEY DW., MAYNARD JE., McCAUSTLAND KA., MURPHY BL., COOK EH., ELBERT JW. Non-A non-B hepatitis in chimpanzees: interference with acute hepatitis A virus and chronic hepatitis B virus infection. J Med Virol, 1983; 11:207-213.

17. BRANDT D., JOHNSON D., STEPHENS D., WEILAND L. Imaging of fibrolamellar hepatocellular carcinoma. Am J Roent., 1988; 151:295-299:

18. BRAUNWALD E., ISSELBACHER KJ., PETERSDORF R., WILSON J., MARTIN J., FAUCI A. Principios de Medicina Interna. 7a ed. Ed MacGraw-Hill.Interamericana. Madrid, 1989.

19. BRECHOT C. Hepatitis B virus (HBV) and hepatocellular carcinoma. HBV-DNA status and its implications. J Hepatol, 1987; 4:269-279.

20. BRODEN G., BENGTSSON B. Biliary carcinoma associated with methyl-dopa therapy. Acta Chir Scand, 1980; 500(Suppl):7-12.

21. BROTMAN B., PRINCE A-M., HUIMA T., RICHARDSON MC., VAN DEN ENDE MC., PFEIFER U. Interference between non-A, non-B and hepatitis B virus infection in chimpanzees. J Med Virol, 1983; 11:191-205.

22. BRUIX J., BARRERA JM., CALVET X., ERCILLA G., COSTA J., SANCHEZ-TAPIAS JM.. Prevalence of antibodies to hepatitis C virus in spanish patients with hepatocellular carcinoma and hepatic cirrosis. Lancet, 1989; 2:1004-1006.

23. BRUIX J., TERES J.. Diagnóstico temprano del carcinoma hepatocelular. Med Clin (Barc.), 1988; 91:379-381.
24. BRUMM C., SCHULZE C., CHARELS K., MOROHOSHI T., KLOPEL G. The significance of alpha-fetoprotein and other tumour markers in differential immunocytochemistry of primary liver tumours. Histopathol, 1989; 14:503-513.
25. BURLINA A., PLEBANI M., DECHECCHI C., ZANINITTO M. Occurrence of an atypical alkaline phosphatase fraction ("biliary") in primary liver cancer. Clinical Biochemistry, 1983; 16:346-349.
26. CALVET X., BRUIX J., BRU C., VILANA R., et al. Natural history of hepatocellular carcinoma in Spain. J Hepatol, 1990; 10: 311-317.
27. CAPORASO N., ROMANO M., MARMO R., DE SIO I., MORISCO F. Hepatitis C infection is an additive risk factor for development of hepatocellular carcinoma in patients with cirrhosis. J Hepatol, 1991; 12:367-371.
28. CARROZZA M., CALAFATIS S., EDMONDS P. Immunocytochemical localization of polyclonal CEA in hepatocellular carcinomas. Acta Cytol, 1991; 35,2:221-224.
29. CASELITZ J., SEIFERT G., JAUP T. Presence of carcinoembryonic antigen(CEA) in the normal and inflamed human paratiroid gland. J Cancer Res Clin Oncol, 1981; 100:205-211.

30. CASTELLS L., VARGAS P., COMAS D., GARCIA SUREDA., GUARDIA J. Carcinoma hapetocelular: clinica, diagnostico y supervivencia en 140 casos. Med Clin (Barc), 1993; 100:441-446.

31. COLOMBO M., FRANCHIS R., DEL NINNO E., et al. Hepatocellular carcinoma in italian patients with cirrhosis. N Engl J Med, 1991; 325:675-680.

32. COLOMBO M., KUO G., CHOO QL., DONATO MF., DEL NINO E., TOMMASINI MA.. Prevalence of antibodies to hepatitis C virus in italian patients with hepatocellular carcinoma. Lancet, 1989; 2:1006-08.

33. CONTRERAS M., BARBARA JAJ., ANDERSON CC., RAHASINGHE E., MOORE C., BRENNAN MT., HOWELL DR., et al. Low incidence of non-A non-B post-trasfusion hepatitis in London confirmed by hepatitis C virus serology. Lancet, 1991; 1:753-757.

34. CORTES JM. Carcinoma hepatocelular y virus B de la hepatitis. Gastroenterol Hepatol, 1986; 9:92-99.

35. CRAIG JR., PETERS RL., EDMONDSON HA., OMATA M. Fibrolame-llar carcinoma of the liver: a tumour of adolescents and young adults with distintive clinicopathologic features. Cancer, 1980; 46:372-379.

36. CHAMLIAN A., BENKOEL L., IKOLI JF., BRISSE J., JACOB T. Nuclear immunostaining of hepatitis C infected hepatocytes with monoclonal antibodies to C100-3 non-structural protein. Cell Mol Biol (Noisy-le-grand), 1993 May; 39(3):243-251.

37. CHAN SH., SIMONS MJ., OON CI. HLA antigens in Chinese patients with hepatocellular carcinomas. Journal of the National Cancer Institute, 1980; 65:21-23.

38. CHANG MH., LEE CY., CHEN DS. Minimal role of hepatitis C virus infection in childhood liver diseases in an area hyperendemic for hepatitis B virus infection. J Med Virol, 1993 Aug; 40(4):322-325.

39. CHEN DS., SUNG JL. Serum alpha-fetoprotein in hepatocellular carcinomas. Cancer, 1977; 40:779-783.

40. CHLEBOWSKI RT., TONG M., WEISSMAN J. Hepatocellular carcinoma: diagnostic and prognostic features in North American patients. Cancer, 1984; 53:2701-2706.

41. CHOO QL., KUO G., WEINER AJ., OVERBY LR., BRADLEY DW., HOUGHTON M. Isolation of a cDNA clone derived from a blood-borne non-A non-B viral hepatitis genome. Science, 1989; 244:359-362.

42. CHRISTENSEN WN., BOITNOTT JK., KUHAJDA FP. Immunoperoxidase staining as a diagnostic aid for hepatocellular carcinoma. Mod Pathol, 1989; 2:8-12.

43. CHUANG W-L., CHANG W-Y., LU S-N., SU W-P., LI Z-Y., CHEN S-C., et al. The role of hepatitis B and C viruses in hepatocellular carcinoma in an hepatitis B endemic area. Cancer, 1992; 69:2052-2054.

44. DEPREZ C., VANGANSBEKE D., FASTREZ R., PASTEELS J-L., VERHEST A., KISS R. Nuclear DNA content, proliferation index, and nuclear size determination in normal and cirrhotic liver, and in benign and malignant primary and metastatic hepatic tumors. *Am J Clin Pathol*, 1993; 99:558-565.

45. DI BISCEGLIE AM., HOOFNAGLE IH. Elevations in serum alpha-fetoprotein levels in patient with chronic hepatitis B. *Cancer*, 1989; 64:2117-2120.

46. DIAMANTIS ID., MCGANDY CE., CHEN TJ., LIAW YF., GUDAT F., BIANCHI L. Detection of hepatitis B and C viruses in liver tissue with hepatocellular carcinoma. *J Hepatol*, 1994; Mar.; 20(3):405-9.

47. DIAZ FAES M., LAMAMIE DE CLAIRAC E., POZO F., et al. Hepatoblastoma mixto del adulto. *Rev Esp Enf Ap Digest*, 1987; 71; 2:157-160.

48. DIENSTAG JL., ALTER HJ. Non-A non-B hepatitis: evolving epidemiologic and clinical perspectives. *Semin Liver Dis*, 1986; 6:67-81.

49. DONATA MF., COLOMBO M., MATARAZZO M., PARONETTO F. Distribution of basement membrane components in human hepatocellular carcinoma. *Cancer*, 1989; 63:272-279.

50. EDMONDSON HA., PETERS RL. Neoplasms of the liver. In Schiff L., Schiff ER., eds. *Diseases of the liver*. 5a. ed. Philadelphia: JB Lippincot, 1982; 1101.

51. EGCEL H. Veber das primaere carcinoma der leber.
Beitr Pathol Anat. Allg Pathol, 1901; 30:506-604.
52. ERIKSON S., HAGERSTRAND I. Cirrhosis and malignant hepatoma
in A1AT deficiency. Acta Med Scand, 1974; 195:451.
53. ESTADISTICAS DEL MOVIMIENTO NATURAL DE LA POBLACION DE LA
COMUNIDAD DE MADRID. III DEFUNCIONES. Comunidad Autonoma de
Madrid y Ayuntamiento de Madrid. Años 1986(datos desde 1980 a
1986), 1987, 1988, 1989, 1990, 1991.
54. ESTADISTICAS DEL MOVIMIENTO NATURAL DE POBLACION. CENSO.
Instituto Nacional de Estadistica. Años 1975, 1981, 1986 y 1991.
55. ESTADISTICAS DEL MOVIMIENTO NATURAL DE POBLACION. DEFUNCIO-
NES SEGUN LA CAUSA DE MUERTE. CIE 8a. Y 9a.. Instituto Nacional
de Estadistica. Años 1975 a 1991.
56. FABRIS G., BASSO D., LEANDRO G., MEGGIATO T., ELBA S. Serum
CA 19-9 and alpha-fetoprotein levels in primary hepatocellular
carcinoma and liver cirrhosis. Cancer, 1991; 68:1795-1798.
57. FEAR JD., JACKSON P., GRAY C., MILOSZEWSKI KJA., LOSOWSKY
MS. Localisation of factor XIII in human tissues using immunope-
roxidase technique. J Clin Pathol, 1984; 37:560-563.
58. FERGUSON-SMITH MA., MAY HM., O'HARE E., AITKEN DA.
Hereditary persistence of alpha-fetoprotein: a new autosomal
dominant trait identified in the antenatal screening programme for
a spina bifida (Abstract). J Med Genet, 1983; 20:458.

59. FERNANDEZ-IZQUIERDO A., LLOMBART-BOSCH A. Immunohistochemical characterization of 130 cases of primary hepatic carcinomas. Path Res Pract, 1987; 182,6:783-791.

60. FONG T-L., DIBISCEGLIE AM., WAGGONER JG., BANKS SM., HOOFNAGLE JH. The significance of antibodies to hepatitis C virus in patients with chronic hepatitis B. Hepatology, 1991;14:64-67.

61. FOSTER JH, DONOHUE TA, BERMAN MM. Familial liver-cell adenomas and diabetes mellitus. N Eng J Med, 1978; 299:239-241.

62. FRENCH SW. Present understanding of the development of Mallory body. Arch Pathol Lab Med, 1983; 107:445-450.

63. FRENCH SW. The Mallory body: structure, composition and pathogenesis. Hepatology, 1981; 1:76-83.

64. FRIEDMAN A. Calcification in hepatocellular carcinomas. Am J Roet, 1988; 151.

65. FURUKAWA R., TAJIMA H., NAKATA K., KONO K., MURO T., SATO A., KAWAHARA K., et al. Clinical significance of serum alpha-fetoprotein in patients with liver cirrhosis. Tumor Biol, 1984; 5:327-338.

66. GAFFEY M., JOYCE J., CARLSON G., ESTEBAN J. Spontaneous regression of hepatocellular carcinoma. Cancer, 1990; 65:2779-2783.

67. GANJEI P., NADJI N., ALBORES-SAAVEDRA J., MORALES AR. Histologic markers in primary and metastatic tumours of the liver. *Cancer*, 1988; 62:1994.

68. GIBSON JB. Histological typing of tumors of the liver, biliary tract and pancreas. Geneva: World Health Organization, 1978.

69. GOODMAN ZD., ISHAK KG., LANGLOSS JM., SESTERHENN IA., RABIN L. Combined hepatocellular-cholangio carcinoma. *Cancer*, 1985; 55:124-135.

70. GOUSSER AI., ENGELHARDT NV., MASSEYEFF R., CAMAIN RA., BASTERIS B. Immunofluorescent study of alpha-fetoprotein in liver and in liver tumours. Localization of AFP in the tissues of patients with primary liver cancer. *Int J Cancer*, 1971; 7:207-217.

71. GRANADOS Y ARROYO JJ. Correlación anatomoclínica en el hepatocarcinoma. Universidad Complutense de Madrid. Facultad de Medicina. Madrid, 1986.

72. GREENBERG F., ROSE E., ALPERT E. Hereditary persistence of alpha-fetoprotein. *Gastroenterology*, 1990; 98:1083-1085.

73. HAM A., CORMACK D. Tratado de histología. Ed. Interamericana. 8a. ed. Madrid 1984.

74. HARATAKE J., HORIE A. An immunohistochemical study of sarcomatoid carcinomas. *Cancer*, 1991; 68:93-97.

75. HARATAKE J., SCHEUER P. An immunohistochemical and ultrastructural study of the sinusoids of hepatocellular carcinoma. *Cancer*, 1990; 65:1985-1993.
76. HARUNA Y., HAYASHI N., KAMADA T., HYTIROGLOU P., THUNG SN., GERBER MA. Expression of HCV in hepatocellular carcinoma. *Cancer*, 1994, May 1; 73(9):2253-8.
77. HARRISON Principios de Medicina Interna. Ed. MacGraw-Hill, 11ª ed. Madrid. 1989.
78. HASAN F., JEFFERS LJ., MEDINA M., REDDY KR., PARKER T. Hepatitis C-associated hepatocellular carcinoma. *Hepatology*, 1990; 12:589-591.
79. HIRAI H. Hepatocellular cancer. *Tumor Biol*, 1987; 8:86-93.
80. HIROHASHI S., SHIMOSATO Y., YOSHINORI I., OKHURA H., MUKOJIMA T. Distribution of alpha-fetoprotein and immunoreactive CEA in human hepatocellular carcinoma and hepatoblastoma. *Jpn J Clin Oncol*, 1983; 13:37-44.
81. HOSO M., NAKAMUNA Y. Cytophotometric DNA analisis of hepatocellular carcinoma with Mallory bodies. *Virchows Archiv A Pathol Anat*, 1989; 416:51-55.
82. HROMAS RA., STIGLEY J., MURRAY JL. Clinical and pathological comparison of young adult women with hepatocellular carcinoma with and without exposure to oral contraceptives. *Am J Gastroenterol*, 1985; 80:479-485.

83. HSU H-C., LIN W-S-J., TSAI M-J. Hepatitis-B surface antigen and hepatocellular carcinoma in Taiwan. *Cancer*, 1983; 52: 1825-1832.
84. HSU H-C., SHEU J-C., LIN Y-H. Prognostic histologic features of resected small hepatocellular carcinoma in Taiwan. *Cancer*, 1985; 56:672-680.
85. HURLIMANN J., GARDIOL D. Immunohistochemistry in the differential diagnosis of liver carcinomas. *Am J Surg Pathol*, 1991; 15(3):280-288.
86. HUTT MSR. The geographical approach in medical research. *The East African Geographical Review*, 1967;5:1-8.
87. HYO-SUK L., JU HAN C., YONG KIM C. Predominant etiologic association of hepatitis C virus with hepatocellular carcinoma compared with hepatitis B virus in elderly patients in a hepatitis-B endemic area. *Cancer*, 1993; 72:2564-2567.
88. ICHIDA T., HATA K., YAMADA T., HATANO T. Subcellular abnormalities of liver sinusoidal lessions in human hepatocellular carcinoma. *J Submicrosc Cytol Pathol*, 1990; 22(2):221-9.
89. ICHIDA T. Ultrastructural study of intracytoplasmic deposits in human hepatocellular carcinoma. *Gastroenterol Jpn*, 1983; 18:560-73.
90. ISAACSON P., JUD MA. Immunohistochemistry of carcinoembryonic antigen in the small intestine. *Cancer* 42, 1978; (3):1544-155559.

91. JANOT C., COUROUCÉ AM., MANIEZ M. Antibodies to hepatitis C virus in French blood donors. *Lancet*, 1989; 2:796-797.
92. JOHNSON D., HERNDIER B., MEDEIROS L., WARNKE R., ROUSE R. The diagnostic utility of the keratin profiles of hepatocellular carcinoma and cholangiocarcinoma. *Am J Surg Pathol*, 1988; 12(3):187-197.
93. JOHNSON D., POWERS C., RUPP G., FRABLE W.. Immunocytochemical staining of fine-needle aspiration biopsies of the liver as a diagnostic tool for hepatocellular carcinoma. *Modern Pathology*, 1992; 5,2: 117-123.
94. KAKIZOE S., KOJIRO M., NAKASHIMA T. Hepatocellular carcinoma with sarcomatous change. Clinicopatologic and immunohistochemical studies of 14 autopsy cases. *Cancer*, 1987; 59:310-316.
95. KAKLAMANI E., TZONOUA., SPAROS L., KOUMANTAKI I., TRICHOPOULOS D. Hepatitis B virus and primary liver cancer. Relative risk estimation from population correlations. *IRCS Medical Science*, 1983; 11:707-708.
96. KAWARADA Y., MIZUMOTO R. Cholangiocellular carcinoma of the liver. *Am J Surg*, 1984; 147:354-359.
97. KEMENY F., VADROT J., WU A., et al. Morphological and histological features of resected hepatocellular carcinoma in cirrotic patients in the West. *Hepatology*, 1989; 9, 2:253-257.

98. KENMOCHI K., SUGIHARA S., KOJIRO M. Relationship of histologic grade of hepatocellular carcinoma to tumor size, and demonstration of tumor cells of multipledifferent grades in single small hepatocellular carcinoma. Liver, 1987; 7:18-26.

99. KEW MC., HOUGHTON M., CHOO QL., KUO G. Hepatitis C virus antibodies in southern african blacks with hepatocellular carcinoma. Lancet, 1993; 355:873-874.

100. KEW MC., NEWBERNE PM., POPPER H. Genetic factors in hepatocellular carcinoma. UICC Technical Report Series, 1982a; vol. 14, no. 17. UICC, Geneva. ch 7, p 117-121.

101. KEW MC. Tumours of the liver. Scand J Gastroenterol Suppl, 1992; 192P:39-42.

102. KHAN A., BADER JL., HOY GR., SINKS LF. Hepatoblastoma in child with fetal alcohol syndrome. Lancet, 1979; 1:1403-1404.

103. KHOO SK., MACKAY IR. Carcinoembryonic antigen in serum in deseases of the liver and pancreas. J Clin Pathol, 1973; 26:470-475.

104. KIYOSAWA K., SODEYAMA T., TANAKA E., et al. Interrelationship of blood transfusion, nonA-nonB hepatitis and hepatocellular carcinoma: analysis by detection of antibody to hepatitis C virus. Hepatology, 1990; 12:671-675.

105. KLATSKIN G. Adenocarcinoma of hepatic duct and its bifurcation within the porta hepatis. An unusual tumor with distinctive clinical and pathological features. *Am J Med*, 1965; 38:241-256.
106. KOJIRO M., KAWABATA K., KAWANO Y., SHIRAI F., TAKEMOTO N., NAKASHIMA T. Hepatocellular carcinoma presenting as intra-bile duct tumour growth. A clinicopatological study of 24 cases. *Cancer*, 1982; 49:2144-47.
107. KUBOSHABA H., ISHIGE H., KONDO Y., NAGAO K., et al. Hepatocellular carcinoma with rhabdomyoblastic differentiation. *Cancer*, 1988; 62:781-786.
108. LAGUNA P. Infeccion por virus de la hepatitis C: seroepidemiologia y diagnostico serologico. *An Med Intern*, 1993; 10(1):38-46.
109. LAI CL., WU PC., LAM KC., TODD D., WONG KP. Clinical features of hepatocellular carcinoma: review of 211 patients in Hong-Kong. *Cancer*, 1981; 47:2746-2755.
110. LEE C-S., HWANG L-Y., BEASLEY P., HSU H-C., et al. Prognostic significance of histologic findings in resected small hepatocellular carcinoma. *Acta Chir Scand*, 1988; 154:199-203.
111. LEE FY., LEE SD., TSAI YT., WU JC., LAI KH., LO KJ. Serum C-reactive protein as a serum marker for the diagnosis of hepatocellular carcinoma. *Cancer*, 1989; 63:1567-1571.

112. LEHMANN F-G., WEGENER T. Alpha-fetoprotein in liver cirrhosis. Prognostic and diagnostic significance of the transient rise of serum alpha-fetoprotein. In: Lehmann F-G ed. Carcinoembryonic proteins. Vol I. Amsterdam: Elsevier/ North-Holland Biomedical Press, 1979:219-231.

113. LIANG TJ., JEFFERS L., REDDY KR., DE MEDINA M., PARKER T., CHEINQUER H. Viral pathogenesis of hepatocellular carcinoma in USA. Hepatology, 1993; 18:1326-1333.

114. LIEBER CS., SEITZ HK., GARRO AJ., WORNER TM. Alcohol related diseases and carcinogenesis. Cancer Research, 1979; 39:2863-2886.

115. LIEBERMAN J., SILTON RM., AGLIOZZO CM., McMAHON J. Hepatocarcinoma and intermediate A1AT deficiency (MZ phenotype). Am J Clin Pathol, 1975; 64:304.

116. LINDA K., GREEN MD., ELVIO G., SILVA MD. Hepatoblastoma in an adult with metastasis to the ovaries. Am J Clin Pathol, 1989; 92:110-115.

117. LOGERFO P., HERTER FP. Demonstration of tumor associated antigen in the normal lung. J Surg Oncol, 1972; 4:1-7.

118. LUDWIG J. Drug effects on the liver. A tabular compilation of drugs and drug-related hepatic diseases. Digestive Diseases and Sciences, 1983; 24:785-796.

119. LUNEL F. Virus de l'hépatite C: le virus responsable de la plupart des hépatites nonA nonB. Gastroenterol Clin Biol, 1992; 16:526-536.
120. MACKE RA., HUSSAIN MB., IMRAY TJ., et al. Osteogenic and sarcomatoid differentiation of a renal carcinoma. Cancer, 1985; 56:2452.
121. MALTZ C., LIGHTDALE CJ., WINAWER SJ.. Hepatocellular carcinoma: new directions in aetiology. Am J Gastroenterol, 1980;74:361.
122. MANIVEL C., WICK MR., ABENZOA P., et al. Teratoid hepatoblastoma: the nosologic dilemma of solid embryonic neoplasms of childhood. Cancer, 1968; 57:2168.
123. MARIUS NAP., KLASKE A., HOOR , FLEUREN G-J. Cross-reactivity with normal antigens in comercial antiCEA sera, used for immunohistology. Am J Clin Pathol, 1983; 79:25-31.
124. MARTET G., DEBONNE J.M., AUBRY P., LECAMUS J.L. Les marqueurs biologiques et histologiques de l'hépatite chronique á virus B. Revue française des laboratoires, 1990, Jan;201:61-67.
125. MARTI M., LLORETA J., BOMBI JA., BRUGUERA M., CARDESA A.. Carcinoma hepatocelular. Estudio clinico-patologico de una serie autopsica de 110 casos. Gastroenterol Hepatol, 1989; 12:523-528.
126. MARTINEZ C. Aproximación a la epidemiología del cáncer en España. En: Albert J., Alvarez Y., Casas A., et al. Libro Blanco de la Oncología en España. p19-47. Ed JIMS, Barcelona, 1988.

127. MARTINEZ TENORO, P. Aspectos clínicos, analíticos y evolutivos del hepatocarcinoma. Universidad Complutense de Madrid. Facultad de Medicina. Madrid, 1986.

128. MASSEYEFF R., BONET C., DROUET J., SUDAKA P., LALANNEC C. Radiimmunoassay of alpha-fetoprotein. I Technique and serum levels in the normal adult. Digestion, 1974; 10:17-28.

129. MAUPAS P., MELNICK JL. Hepatitis B infection and primary liver cancer. Progress in Medical Virology, 1981; 27:1-5.

130. MCSWEEN R., ANTHONY P., SCHEUER P. Pathology of the liver. 2a. ed.. Ed. Churchill Livingstone. London, 1987.

131. MCHUTCHISON JG., PERSON JL., GOVINDARAJAN S. Improved detection of hepatitis C virus antibodies in high-risk populations. Hepatology, 1992; 15:19-25.

132. MELAMED I., BUJANOVER Y., HAMMER J. Hepatoblastoma in an infant born to a mother after hormonal treatment for sterility. N Engl. J Med, 1982; 307:820.

133. MORE TL., KUPCHIK HZ., MARCON N., ZAMCHECK N. Carcinoembryonic antigen assay in cancer of the colon and pancreas and other digestive tract disorders. Am J Dig Dis, 1971; 16: 1-7.

134. MOROWITZ DA., GLAGOV S., DORDAL E., KIRSNER JB. Carcinoma of the biliary tract complicating chronic ulcerative colitis. Cancer, 1971; 27:356-361.

135. MUÑOZ N., BOSCH X.. Epidemiology of hepatocellular carcinoma. En Okuda K., Ishak KG., editores. Neoplasms of the liver. Tokio: Springer-Verlag, 1987:3-19.
136. MUÑOZ P., RAO MS., REDDY JK. Osteoclastoma-like giant cell tumor of the liver. Cancer, 1980; 46:771-779.
137. NAGASUE N., KOHNO H., CHANG Y., YAMANOI A., NAKAMURA T., YUKAYA H., HAYASHI T.. Clinicopathologic comparisons between estrogen receptor-positive and negative hepatocellular carcinomas. Ann Surg, 1989; 212,2:150-154.
138. NAKAJIMA T., KONDO Y. A clinicopathologic study of intrahepatic cholangiocarcinoma containing a component of squamous cell carcinoma. Cancer, 1990; 65:1401-1404.
139. NAKAJIMA T., KUBOSAWA H., KONDO Y., KONNO A., IWAMA S. Combined hepatocellular-cholangiocarcinoma with variable sarcomatous transformation. Am J Clin Pathol., 1988; 90:309-312.
140. NAKAMUNA Y., OHTA G. Expression of Mallory bodies in hepatocellular carcinoma in man and its significance. Cancer, 1986; 57:81-86.
141. NAKAMUNA Y., SUGIURA J., OHTA G. Cytoplasmic expresion seen in hepatocellular carcinoma. Acta Hepatol Jpn, 1981; 22:266-272.

142. NAKANUMA Y., TERADA T., TANAKA T. Are hepatolithiasis and cholangiocarcinoma aetiologically related ? . A morphological study of 12 cases of hepatolithiasis associated with cholangiocarcinoma. *Virchows Arch (a)*, 1985; 406:45-58.

143. NAKASHIMA T., OKUDA K., KOJIRO M., JIMI A., YAMAGUCHI R. Pathology of hepatocellular carcinoma in Japan: 232 consecutive cases autopsied in ten years. *Cancer*, 1983; 51: 863-877.

144. NEUMANN RD., LI VOLSI VA., ROSENTHAL NS., BURRELL M., BALL TJ. Adenocarcinoma in biliary papilomatosis. *Gastroenterology*, 1976; 70:779-782.

145. NISHIOKA K., WATANABE J., FURUTA J., et al. A high prevalence of antibody to the hepatitis C virus in patients with hepatocellular carcinoma in Japan. *Cancer*, 1991; 67:429-433.

146. NISHIOKA M., IBATA T., OKITA K., KARADA T., FUJITA T. Localization of alpha-fetoprotein in hepatoma tissues by immunofluorescence. *Cancer Res*, 1978; 32:162-166.

147. OHKOSHI S., KATO N., KINOSHITA T., HIJIKATA M., OHTSUYAMA Y., OKAZAKI N., OHKURA H., et al. Detection of hepatitis C virus RNA in sera and liver tissues of non-a non-b hepatitis patients using the polimerase chain reaction (PCR). *Jpn J Cancer Res*, 1990; 81:862-865.

148. OKADA Y., ARIMA T., TOGAWA K., et al. Neoexpression of ABH and Lewis blood group antigens in human hepatocellular carcinomas. *JNCI*, 1987; 78:19-28.

149. OKADA Y., JINNO K., MORIWAKI S., MORICHIKA S., et al. Expression of ABH and Lewis blood group antigens in combined hepatocellular-cholangiocellular carcinoma. *Cancer*, 1987; 60:345-352.

150. OKAMOTO H., TSUDA F., MACHIDA A., et al. Antibodies against synthetic oligopeptides deduced from the putative core gene for the diagnosis of hepatitis C virus infection. *Hepatology*, 1992; 15:180-186.

151. OKUDA H., OBATA H., MOTOIKE Y., HISAMITSU T. Clinicopathological features of hepatocellular carcinoma: comparison of hepatitis B seropositive and seronegative patients. *Hepatogastroenterology*, 1984; 31:64-68.

152. OKUDA K., BEASLEY PR. Epidemiology. In: Okuda k., MacKay I (eds). *Hepatocellular carcinoma*. UICC. Technical Report Series, 1982; vol 74, no. 17. UICC. Geneva.

153. OKUDA K., PETERS RL., SIMSON LW. Gross anatomic features of hepatocellular carcinoma from three disparate geografic areas: proposal of new classification. *Cancer*, 1984; 54:2165-2173.

154. ORDOÑEZ NG., MANNING Jr JT. Comparison of alpha-1-antitrypsin and alpha-1-antichymotripsin in hepatocellular carcinoma: an immunoperoxidase study. *Am J Gastroenterol*, 1984; 79:959-963.

155. OTTEN J., SMETS R., DE JAGER R., GERARD A. Hepatoblastoma in an infant after contraceptive intake during pregnancy. *N Engl J Med*, 1977; 297:222.

156. PALMER PE., CHRISTOPHERSON Wm., WOLFE HJ. Alpha-1-antitrypsin protein marker in oral contraceptive-associated hepatic tumours. Am J Clin Pathol, 1976; 68:736.

157. PARES A., BARRERA JM., CABALLERIA J., et al. Hepatitis C virus antibodies in chronic alcoholic patients: associations with severity of liver injury. Hepatology, 1990; 12:1295-1299.

158. PARKIN DM., STJERNSWARD J., MUIR CS. Estimates of the world wide frequency of twelve major cancers. Bull World Health Organ, 1984; 62:163-182.

159. PATERLINI P., DRISS F., NALPAS B., FRANCO D., BERTHETOT P., BRÉCHOT C. Persistence of hepatitis B and hepatitis C viral genomes in primary liver cancers from HBsAg-negative patients. Hepatology, 1993; 17:20-29.

160. PAYAN MJ., CHOUX R., SAHEL J., et al. Caroli's disease associated with pancreatic heterotopia and biliary papillomatosis. Histopathology, 1985; 9:1001-1006.

161. PEERS FG., LINSELL CA. Dietary aflatoxins and liver cancer. A population based study in Kenya. British Journal of Cancer, 1973; 27:473-484.

162. PETERS RL. Pathology of hepatocellular carcinoma. In Okuda K., Peters RL. (eds). Hepatocellular carcinoma. Wiley, New York ch 8 p107-168, 1976.

163. PEYROL S., GRIMAUD JA., VEYRE CB., PALIARD P., LAMBRT R. Tissular immunoenzymatic detection of hepatic alpha-fetoprotein in human hepatomas. *Digestion*, 1978; 18:351-370.
164. PONTISSO P., MORISCA G., RUVOLETTA MG., BARZON M., PERILONGO G. Latent hepatitis B virus infection in childhood hepatocellular carcinoma. *Cancer*, 1992; 69:2731-2735.
165. POYNARD T., AUBERT A., LAZIZI Y., BEDOSSA P., HAMELIN B., TERRIS B., NAVEAU S., et al. Independent risk factors for hepatocellular carcinoma in French drinkers. *Hepatology*, 1991; 13:896-901.
166. PRIMACK A., VOGEL CL., BARKER LF. Immunological studies in Ugandan patients with hepatocellular carcinoma. *British Medical Journal*, 1973; 1:16-19.
167. PURTILO DT., GOTTLIEB LS. Cirrhosis and hepatoma occurring at Boston City Hospital. *Cancer*, 1973; 32:458-462.
168. QUARANTA J.F., VIVINUS-NEBOT M., TICCHIONI M., BERNARD A. Abécédaire des hépatites virales. *Feuilletts de biologie*, 1991, vol XXXII(178):37-49.
169. RONCALLI M., BORZIO M., TOMBESI MV., FERRARI A., SERVIDA E. A morphometric study of liver cell dysplasia. *Hum Pathol*, 1988; 19:471-474.
170. RUCK P., HARMS D., KAISERLING E. Neuroendocrine differentiation in hepatoblastoma: an immunohistochemical investigation. *Am J Surg Pathol*, 1990; 14(9):847-855.

171. RUCK P., KAISERLING E. Extracellular matrix in hepatoblastoma: an immunohistochemical investigation. *Histopathology*, 1992; 21:115-126.

172. RUCK P., KAISERLING E. Melanin-containing hepatoblastoma with endocrine differentiation. *Cancer*, 1993; 72:361-368.

173. RUFFIN M. Fibrolamellar hepatoma. *Am J Gastroenterol*, 1990; 85,5:577-581.

174. RUIZ J., SANGRO B., CUENDE JI., BELOQUI O., RIEZU-BOJ JI., HERRERO JI., PRIETO J. Hepatitis B and C viral infections in patients with hepatocellular carcinoma. *Hepatology*, 1992; 16:637-641.

175. SANDLER PP., SANDLER RS., HORNEY LF. Primary liver cancer: indication of increased incidence in selected cancer registry populations. *Journal of the National Cancer Institute*, 1983; 65:241-247.

176. SATO Y., FUJIWARA K., NAKAGAWA S., et al. Spontaneous regression of hepatocellular carcinoma with bone metastases. *Cancer*, 1985; 56:667-671.

177. SCHAFFNER E., POPPER H. Capillarization of hepatic sinusoids in man. *Gastroenterology*, 1963; 44:239-242.

178. SCHWARTZ S., SHIRES T., SPENCER F. Principios de cirugía. Ed. McGraw Hill 5ª ed. México, 1991.

179. SELL S., DUNSFORD H. Evidence of the stem cell origin of hepatocellular carcinoma and cholangiocarcinoma. Am J Pathol, 1989; 134:1347-1363.

180. SHAFRITZ PA., SHOUVAL P., SHERMAN HI., HADZIYANNIS SJ., KEW MC. Integration of hepatitis B virus DNA into the genome of liver cells in chronic liver disease and hepatocellular carcinoma: studies in percutaneous liver biopsies and postmortem tissue specimens. The New England Journal of Medicine, 1981; 305:1067-1073.

181. SILVER HKB., DENEALT J., GOLD P., THOMPSON WG., SHUSTER J., FREEDMAN SO. The detection of alpha-fetoprotein in patients with viral hepatitis. Cancer Res, 1974; 34:244-247.

182. SIMONETTI RG., CAMMA C., FIORELLO F., COTTONE M., RAPICETTA M., MARINO L. Hepatitis C virus as a risk factor of hepatocellular carcinoma in patients with cirrhosis. A case control study. Ann Intern Med, 1992; 116:97-102.

183. SKINHOJ P., HART HANSEN JP., NIELSEN NH., MIKKELSEN F. Occurrence of cirrhosis and primary liver cancer in an Eskimo population hyperendemically infected with hepatitis B virus. Am J Epidemiol, 1978; 108:121-125.

184. STEWART S. Is there a liver stem cell?. Cancer Research, 1990; July 1, 50:3811-3815.

185. STROFFOLINI T., CHIARAMONTE M., TIRIBELLI C., VILLA E., SIMONETTI RG., RAPICETTA M., et al. Hepatitis C virus infection, HBsAg carrier state and hepatocellular carcinoma: relative risk and population attributable risk from a case-control study in Italy. *J Hepatol*, 1992 Nov; 16(3):360-363.
186. STROMEYER FW., ISHAK KG., GERBER MA., MATHEW T. Ground-glass cells in hepatocellular carcinoma. *Am J Clin Pathol*, 1980; 74:254-8.
187. SUZUKI K., UCHIDA T., HORIUCHI R., SHIKATA T. Localization of hepatitis-B surface and core antigens in human hepatocellular carcinoma by immunoperoxidase methods. *Cancer*, 1985; 56:321-327.
188. SUZUKI T., WATANABE K., ONO T. Immunohistochemical demonstration of liver fatty acid-binding protein in human hepatocellular malignancies. *Journal of Pathology*, 1990; 161:79-83.
189. SVENBERG T., HAMMARSTROM S., HEDIN A. Purification and properties of biliary glycoprotein I(BGPI). Immunochemical relationship to CEA. *Mol Immunol*, 1979; 16:245-252.
190. TABARIN A., BIOULAC-SAGE P., BOUSSAIRIE L., BALABAUD C., DE MASCARELL A., GRIMAUD JA. Hepatocellular carcinoma developed on non-cirrhotic livers: sinusoids in hepatocellular carcinoma. *Arch Pathol Lab Med*, 1987; 111:174-180.
191. TAGA H., HIRAI H., ISHIZUKA H., KANEDA H. Early diagnosis of hepatocellular carcinoma with lectin electrophoresis of serum alpha-fetoprotein. *Tumor Biol*, 1988; 9:110-115.

192. TAKAYASU K., MURAMATSU Y., MORIYAMA N., MAKUUCHI M.
Hepatocellular and cholangiocellular carcinoma. Double cancer of
the liver. Am J of Gastroenterol, 1989; 84; 5: 544-547.
193. TAKETA K. Alpha-fetoprotein. J Med Techol, 1989; 33:1380-
1384.
194. TAKETA K. Alpha-fetoprotein: reevaluation in hepatology.
Hepatology, 1990; 12(6):1420-1432.
195. TAKETA K., SEKIYA C., NAMIKI M., et al. Lectin-reactive
profiles of AFP characterizing hepatocellular carcinoma and
related conditions. Gastroenterology, 1990; 99:508-518.
196. TANAKA K., HIROHATA T., KOGA S., SUGIMACHI K., KANEMATSU
T., OHRYOHJI Y., et al. Hepatitis C and hepatitis B in the
aetiology of hepatocellular carcinoma in the Japanese population.
Cancer Research, 1991; 51:2842-2847.
197. TAO L. Oral contraceptive-associated liver cell adenoma
and hepatocellular carcinoma: cytomorphology and mechanism of
malignant transformation. Cancer, 1991; 68:341-347.
198. TATARINOV YS. Presence of embryospecific alpha-globulin
in the serum of patients with primary hepatocellular carcinoma.
Vopr Med Khim, 1964; 10:90-91.
199. TATARINOV YS. The discovery of fetal globulines in
patients with primary cancer of the liver (Abstract). First
International Biochemistry Congress of the USSR. Moscow:
Academy of Sciences USSR, 1963:274.

200. TEEFEY S., STEPHENS D., WEILAND L. Calcification in hepatocellular carcinoma. *Am J Roent*, 1987; 149:1173-1174.

201. THE LIVER CANCER STUDY GROUP OF JAPAN: Primary liver cancer in Japan. *Cancer*, 1987; 60: 1400-1411.

202. THUNG S., GERBER M., SARNO E., POPPER H. Distribution of five antigens in hepatocellular carcinoma. *Laboratory Investigation*, 1979; 41,2:101-105.

203. TOMIMATSU M., ISHIGURO N., TANIAI M., OKUDA H., SAITO A., OBATA H., YAMAMOTO M., TAKASAKI K., NAKANO M. Hepatitis C virus antibody in patients with primary liver cancer in Japan. *Cancer*, 1993; 72:683-688.

204. TORIMURA T., VENO T., INUZUKA S., KIN M., TANIKAWA K. The extracellular matrix in hepatocellular carcinoma shows differeent localization patterns depending on the differentiation and the histological pattern of tumour: immunohistochemical analysis. *J Hepatol*, 1994, Jul;21(1):37-46.

205. TOUKAN A., KIMBALL K., ALPERT E. Prognostic significance of alpha-fetoprotein in chronic viral hepatitis: results of a long.term follow-up study (Abstract). *Gastroenterology*, 1990; 98:A640.

206. TSUCHIDA Y., ENDO Y., SAITO S., KANEKO M., SHIRAKI K., OHMI K. Evaluation of alpha-fetoprotein in early infancy. *J Pediatr Surg*, 1978; 13:155-156.

207. TSUKUMUNA H., HIYAMA T., TANAKA S., NAKAO M., YABUUCHI T., et al. Risk factors of hepatocellular carcinoma among patients with chronic liver disease. N Eng J Med, 1993; 328(25):1797-1801.

208. VAN EYKEN P., SCIOT R., CALLEA F., RAMAEKERS F., SCHAART G., DESMET V. A cytokeratin-immunohistochemical study of hepatoblastoma. Hum Pathol, 1990; 21:302-308.

209. VAN EYKEN P., SCIOT R., DESMET V. Immunocytochemistry of cytokeratins in primary human liver tumours. APMIS Suppl, 1991; 23:77-85.

210. VAN EYKEN P., SCIOT R., PATERSON A., CALLEA F., KEW M., DESMET V. Cytokeratin expression in hepatocellular carcinoma: an immunohistochemical study. Hum Pathol, 1988; 19:562-568.

211. VERBAAN H., WIDELL A., LINDGREN S., LINDMARK B., NORDENFELT E., ERIKSSON S. Hepatitis C in chronic liver disease: an epidemiological study based in 566 consecutive patients undergoing liver biopsy during a 10-year period. J of Int Med, 1992; 232:33-42.

212. VILASECA J., LOPEZ J., MONTALBAN J., CORBERA L., ALLENDE E. Incidencia del hepatocarcinoma en nuestro medio durante los ultimos diez anos. Comparacion con un estudio previo. Med Clin (Barc), 1986; 87:611-613.

213. WANG J., CHENIVESSE X., HENGLEIN B., BRECHOT C. Hepatitis B virus integration in a cyclin A gene in a hepatocellular carcinoma. Nature, 1990; 343:555-557.

214. WANG J., DHILLON A., SANKEY E., WIGHTMAN A., LEWIN J., SCHEUER P.. Neuroendocrine differentiation in primary neoplasms of the liver. *J Pathol*, 1991; 163:61-67.
215. WEISS L. *Histologia: Biologia celular y tisular*. Ed. El Ateneo. 5a. ed. Madrid 1986.
216. WEJSTAL R., WIDELL A., NORKRANS G. Hepatitis C virus infection with progression to hepatocellular carcinoma: a report of five prospectively followed patients in Sweden. *Scand J Infect Dis*, 1993; 25(4):417-420.
217. WENMING C., MENGCHAO W.. The biopathologic characteristics of DNA content of hepatocellular carcinomas. *Cancer*, 1990; 66:498-501.
218. WOLBER R., GREENE C-A., DUPUIS B. Polyclonal CEA staining in the cytologic differential diagnosis of primary and metastatic hepatic malignancies. *Acta Cytol*, 1991; 35,2:215-220.
219. WU C., LAI CL., LAM KC., LOK AS., LIN HJ. Clear cell carcinoma of the liver. *Cancer*, 1983; 52:504-507.
220. WU PC. Patterns of hepatitis B surface Antigen. Localization in cells of hepatocellular carcinoma. *Arch Pathol Lab Med*, 1979; 103:165-168.
221. YANO M., YATSUHASHI M., INOUE O., INOKUCHI K., KOGA M. Epidemiology and long term prognosis of hepatitis C virus infection in Japan. *Gut*, 1993; 34(2 Suppl.):513-516.

222. YONEYAMA T., TAKEUCHI K., WATANABE Y., HARADA H., OHBAYASHI A., TANAKA T., YUASA T., et al. Detection of hepatitis C virus cDNA sequence by polimerasa chain reaction in hepatocellular carcinoma tissues. Jpn J Med Sci Biol, 1990; 43:89-94.

223. YOSHIKI S., KEISUKE N., KATO Y., MASAYOSHI S., et al. Early recognition of hepatocellular carcinoma based on altered profiles of alpha-fetoprotein. N Engl J Med, 1993; 328:1802-1806.

TITULADA Tumores primarios del hígado estudio
anatómico, clínico e inmunohistoquímico.

DE LA C. Juan Ignacio
González Muñoz

OPTIMO POR 22 de mayo de 1996 foto con banda por una
minuta.

El Presidente,

Julian G.

El Vocal:

El Vocal: